Spitalul Clinic de Boli Infecţioase
”Sf.Parascheva„ Iaşi
Laboratorul de analize medicale
IASI, Str.Octav Botez Nr 2

PROCEDURA SPECIFICĂ

HEMOLEUCOGRAMA AUTOMATĂ

COD: PSL-H04-01

Editia 1, Revizia 0

Din data de 01.05.2013

APROBAT
Manager Tehnic
Dr. Rodica Fântânaru

VERIFICAT
Responsabil Calitate
Lorena Zaborila

Elaborat:
Dr. Denisa Covaciuc

DIFUZAT IN REGIM CONTROLAT
EXEMPLAR Nr.

Avertisment : Documentul de fata este proprietatea Spitalului Clinic de Boli Infecţioase ”Sf.Parascheva„ Iaşi - Laboratorul de analize medicale. Reproducerea si difuzarea documentului sunt in exclusivitate dreptul laboratorului.

LISTA DE DIFUZARE / RETRAGERE

Locul difuzării	Primit				Retras			
	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură
R. C	0.		As. Lorena Zaborila					
Manager Tehnic	1		Dr. Rodica Fântânaru					
Sef compartiment Hematologie	2		Dr. Denisa Covaciuc					

INDICATORUL REVIZIILOR

Nr. Crt	Data	Editia/ revizia	Identificari modificare Capitol, subcapitol, pagina modificata, continut modificari	Functia si semnatura		
				Elaborat	Verificat	Aprobat

CUPRINS

1.SCOP ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

2. DOMENIUL DE APLICARE ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

3. DOCUMENTE DE REFERINTA ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

4.1. DEFINITII ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
4.2. ABREVIERI ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

5. DESCRIEREA ACTIVITATII ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

5.1. CONTROLUL DOCUMENTELOR INTERNE ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
5.1.2. CODIFICAREA DOCUMENTELOR ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
5.1.3. ELABORAREA DOCUMENTELOR SISTEMULUI CALITATII LABORATORULUI ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
5.1.4. ANALIZAREA SI APROBAREA DOCUMENTELOR SISTEMULUI DE MANAGEMENT AL CALITATII LABORATORULUI. ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
5.1.5. EDITARE, DIFUZARE, RETRAGERE ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
5.1.6. MODIFICAREA DOCUMENTELOR ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
5.1.7. PAGINAREA DOCUMENTELOR ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
5.1.8. EDITAREA INFORMATIZATA A TEXTULUI ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

5.2. CONTROLUL DOCUMENTELOR EXTERNE ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

5.3. ARHIVAREA SI GESTIONAREA DOCUMENTELOR SISTEMULUI DE MANAGEMENT AL CALITATII ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

5.4. ELIMINAREA DOCUMENTELOR ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

6. RESPONSABILITATI ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

7. INREGISTRARI ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

8. ANEXE ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

1. SCOP ŞI DOMENIU DE APLICARE

Procedura se aplică în cadrul compartimentului de hematologie, 04 din Laborator, în vederea determinării a 24 parametrii ai hemoleucogramei automate.
Analizorul foloseşte sânge integral, venos sau capilar, recoltat pe K_3 EDTA permiţând prin rezultatele furnizate, elaborarea unui diagnostic clinic pozitiv, diferenţial cât şi evaluarea evoluţiei în dinamică, sub terapie, a bolnavilor investigaţi. Proba de sânge recoltată în punctele de recoltare stabilite, este preluată, verificată, numerotată în registrul laboratorului. Este transmisă apoi pentru analiză în compartimentul de hematologie.

2. DOCUMENTE DE REFERINŢĂ

2.1. SR EN ISO 15189: 2007-Laboratoare medicale.Cerinţe particulare pentru calitate şi competenţă .
2.2. SR EN ISO/TR 22869-Laboratoare medicale.Ghidul pentru implementare în laboratoare a ISO 15189:2003
2.3. SR EN 15190:2005-Laboratoare medicale.Cerinţe pentru securitare.
2.4. Manualul calităţii Laboratorului cod MC-01, Ed.1, Rev.0
2.5. Manualul de operare al analizorului Sysmex XS-1000i elaborat de Sysmex Corporation, Kobe, Japan 2005
2.6. Păun, R., , Tratat de medicină internă Hematologie ’’, Ed.Medicală, Bucureşti 1997
2.7. Manole, G.H., , Analize de laborator” Ed.Coresi 2004
2.8. Kondi, V., , Laborator clinic-Hematologie’’ Ed. Medicala 1981
2.9. Prospect sânge de control
2.10. Manualul de recoltare a probelor biologice MRP 01
2.11. Norme de curatenie, dezinfectie si eliminarea deseurilor infectioase, cod POL-01
2.12. Balcells, Al., , Examens de laboratoire pour le practicien’’ 1998 Masson, Paris

3. DEFINIŢII ŞI ABREVIERI

3.1. DEFINŢII

3.1.1. Hemoleucogramă automată - o baterie de teste hematologice compusă din doua seturi de bază: numărătoarea completă a celulelor din sânge şi numărătoarea diferenţiată a leucocitelor.

3.1.2. Reproductibilitatea se bazează pe măsurători din aceeaşi probă de sânge integral, proaspăt, fără alarme.
3.1.3. Calibrare - set de operaţii care stabileşte în condiţii specificate relaţia dintre valorile indicate de instrumentul de măsurare şi valorile corespunzătoare concentraţiei unui analit.
3.1.4. Conformitate - îndeplinirea de către un produs, proces sau serviciu a unor cerinţe specificate.
3.1.5. Control intern de calitate- tehnici şi activităţi operaţionale din cadrul unui laborator care sunt folosite pentru a îndeplini cerinţele calităţii.
Monitorizează procesul de verificare a siguranţei măsurătorilor şi cel de eliminare a neconformităţilor.
3.1.6. Evaluarea externă a calităţii - determinarea performanţei măsurătorilor efectuate în laborator cu ajutorul comparării inter-laboratoare.
3.1.7. Analiză de laborator - determinarea uneia sau mai multor caracteristici ale unei probe în conformitate cu o procedură.
3.1.8. Metoda de referinţă - o metodă descrisă tehnic clar şi exact pentru un analit care şi-a dovedit suficientă acurateţe şi precizie în determinările de laborator şi care poate fi folosită pentru a evalua validitatea altor metode de măsurare şi caracterizarea materialelor de referinţă.
3.1.9.Acurateţea - apropierea dintre rezultatul unui test şi valoarea de referinţă acceptată.
3.1.10.Limita de detecţie - rezultat singular minim care cu o anumită probabilitate poate fi diferenţiat de valoarea blancului.
3.1.11. Linearitate - interval de concentraţie în care intensitatea semnalului obţinut este direct proporţional cu concentraţia substanţei care a produs semnalul.
3.1.12.Precizie - apropierea dintre rezultatele independente ale măsurătorilor obţinute în condiţii specificate.
3.1.13.Proba - unul sau mai multe eşantioane luate dintr-un sistem şi destinate obţinerii de informaţii cu privire la întregul sistem.
3.1.14. Probă de laborator - probă primară sau subprobă preparată pentru a fi trimisă/primită în laborator pentru a fi măsurată.
3.1.15.Test - operaţiune tehnică constând în determinarea uneia sau mai multor caracteristici ale unui produs, proces, serviciu în concordanţă cu o anumită procedură.
3.1.16.Validare - confirmare, prin examinarea şi prezentarea dovezilor obiective a faptului că sunt îndeplinite cerinţele particulare ale une utilizari specifice propuse.
3.1.17.Trasabilitate - o proprietate atribuită unui rezultat, test sau valoare măsurată care poate fi raportată la o referinţă fixată, de obicei standarde naţionale sau internaţionale, printr-o serie continuă de determinări ale cărei incertitudini sunt cunoscute.
3.1.18.Incertitudine de măsurare - estimaţie caracterizând intervalul de valori în interiorul căruia se găseşte valoarea adevărată a măsurandului.

3.1.19.Limitele intervalului de valori - interval care cu o anumită probabilitate include valoarea adevarată a măsurandului .

3.2. ABREVIERI

HLG - hemoleucograma
WBC - (white blood cells) –leucocite
RBC – (red blood cells) – eritrocite/hematii
HGB – hemoglobină

HCT – hematocrit
MCV - (medium cell volume)-volum eritrocitar mediu/VEM
MCH - (medium cell hemoglobin)-hemoglobină eritrocitară medie/HEM
MCHC - (medium cell hemoglobin concentration)-concentraţie în HGB eritrocitară medie/CHEM
PLT – platelet-plachete/trombocite
MPV - volum plachetar mediu
P-LCR – (platelet large cell ratio)-proporţia de macroplachete din totalul de plachete
PCT - plachetocrit
NEUT - neutrofile
EO - eosinofile
MONO - monocite
BASO - bazofile
LYMPH - limfocite
RDW (red cell distribution width)- variaţia distribuţiei eritrocitelor
PDW (platelet distribution width)- variaţia distribuţiei plachetelor
FL –formulă leucocitară
Fe - fier

4. DESCRIEREA PROCEDURII
SEMNIFICAŢIE CLINICO-BIOLOGICĂ

Hemoleucograma reuneste infomatia prvitoare la populatiile de eritrocite, leucocite trombocite oferita de un analizor automat.
Prin măsurarea de elemente celulare din sângele periferic se obţin date importante într-un timp foarte scurt despre numărul, tipul, dimensiunea şi forma celulelor. Deşi în majoritatea cazurilor aceste măsurători sunt exacte pot exista şi situaţii (limite de sistem) în care valorile redate să înregistreze anomalii.
În astfel de cazuri se execută frotiul de sânge periferic şi se examinează la microscopul optic pentru aprecieri semicantitative, detalii morfologice, de tinctorialitate precum şi detecţia de celule anormale.

PRINCIPIUL METODEI

4.1.1. Analizorul Sysmex XS- 1000i
Este un analizor automat de hematologie dotat cu tehnologie 5Diff destinat laboratoarelor clinice. Analizează şi afişează rezultatele pentru 24 de parametri hematologici ai probei de sânge venos sau capilar.
În funcţie de modalităţile de determinare aceştia se împart în :
a) parametri măsuraţi direct:
-HGB – prin metoda spectrofotometrică fără cianuri – SLS -
-WBC, RBC, PLT – prin metoda impedanţei
-MCV, MPV – prin calcul (suma volumelor celulelor/numar total de celule)
-RDW, PDW – prin aprecierea coeficientului de variaţie al marimii eritrocitelor respectiv plachetelor.
b) parametri măsuraţi indirect:

-HCT =RBC × MCV/10
-MCH =HGB × 10/RBC
-MCHC = HGB × 100/HCT
c)parametri evaluaţi prin măsurarea dimensiunilor, densităţii optice, a refracţiei şi absorbţiei :
LYMPH: 35-90 fl; EO, MONO, BASO- 90-160 fl; NEUT >160 fl

4.1.2. Principiile detecţiei

Acest instrument efectueaza analize hematologice conform cu focusarea hidrodinamică (impedanţa), metoda citometriei în flux (utilizand un laser cu semiconductor) şi metoda SLS -hemoglobină.
a) Metoda focusării hidrodinamice (impedanţa)
În interiorul detectorului, ’’sample nozzle’’ este poziţionat în faţa aperturii în poziţie centrală. Proba diluată este trimisă forţat în camera conică, înconjurată de o teaca frontală de reactiv şi dirijată către centrul aperturii, traversând-o apoi la tubul de fixare. Deoarece celulele sanguine trec linear prin apertură se previne generarea de ” pulsuri’’ false de către acestea. Se îmbunătăţeşte astfel acurateţea şi reproductibilitatea numărătorii celulelor.
b) Metoda citometriei în flux cu laser semiconductor
Citometria este folosită pentru a analiza caracteristicile fiziologice şi chimice ale celulelor. O probă de sânge este aspirată, măsurată şi diluată într-un raport specific şi colorată.Proba este trimisă în celula de flux.O rază laser este emisă către celulele sanguine şi trece prin celula de flux.Lumina refractată în faţă şi lateral este captată de o fotodiodă şi lumina fuorescentă laterală este captată de un tub fotomultiplicator şi convertită în ’’pulsuri ’’ electice aducând informaţii despre celulele sanguine.
c) Metoda cu SLS - hemoglobină
Metoda îmbină avantajele a două metode anterioare: cu cianmethemoglobină şi oxihemoglobină.Viteza de conversie a HGB este mare şi nu foloseşte substanţe toxice

fiind adecvată sistemelor automate de determinare. Membrana eritrocitelor este lizată de surfactanţi cu eliberare de HGB.Globina din structura HGB este modificată prin acţiunea grupării alchilhidrofile a SLS ducând la conversia HGB din stare feroasă (Fe^{2+}) în stare ferică (Fe^{3+}) cu formarea methemoglobinei care se combină cu SLS şi formează SLS – HGB .

4.2. RESURSE NECESARE

4.2.1. Echipamente şi accesorii. Descriere şi funcţii .

Vedere de ansamblu asupra aparatului.
Analizorul Sysmex XS-1000i are în configuraţie următoarele componente principale:
-Unitatea principală XS-1000i ce analizează probele şi controalele.

-Unitatea de procesare a informaţiei (I.P.U.): procesează datele generate de echipamentul de măsură.
-Imprimanta de pagini.
-Dispozitiv pentru încărcarea automată a probelor : dirijează automat probele către unitatea principală (alimentator de probe).

4.2.2. Intervale de referinţă .

Intervalele de referinţă pentru populaţia normală au fost stabilite pe baza unor probe recoltate de la subiecţi normali.
Intervalele pentru fiecare parametru este calculat folosind un interval de încredere 95 % .

Parametru	Interval pentru femei	Interval pentru bărbaţi	Unitate
WBC	3, 98-10, 04	4, 23-9, 07	×10³/µl
NEUT	34, 0-71, 1	34, 0-67, 9	%
LYMPH	19, 3-53, 5	21, 8-57, 0	%
MONO	4, 7-12, 5	5, 3-12, 2	%

Parametru	Interval pentru femei	Interval pentru bărbaţi	Unitate
EO	0, 7-4, 0	0, 8-4, 0	%
BASO	0, 1-1, 2	0, 2-1, 2	%
NEUT	1, 56-6, 13	1, 78-5, 38	×10³µl
LYMPH	1, 18-3, 74	1, 32-3, 57	×10³µl
MONO	0, 24-0, 36	0, 30-0, 82	×10³µl

EO	0, 04-0, 36	0, 04-0, 54	×10³µl
BASO	0, 01-0, 08	0, 01-0, 08	×10³µl
RBC	3, 93-5, 22	4, 63-6, 08	×10⁶µl
HGB	11, 2-15, 7	13, 7-17, 5	g/dl
HCT	34, 1-44, 9	40, 1-51, 0	%
MCV	79, 4-94, 8	79, 0-92, 0	fl
MCH	25, 6-32, 2	25, 7-32, 2	pg
MCHC	32, 2-35, 5	32, 3-36, 5	g/dl
RDW-CV	11, 7-14, 4	11, 6-14, 4	%
RDW-SD	36, 4-46, 3	35, 1-43, 9	fl
PLT	182-369	163-337	×10³µl

Valori normale ale E, HGB, HCT la diverse vârste

Vârstă	E ×10⁶µl	HGB g /dl	HCT %
1-5 zile	5, 1 ± 1, 0	17, 3 ± 4.0	49, 0 ± 10
16 zile-6 luni	4, 5 ± 0, 7	12, 2 ± 2, 3	36, 0 ± 6, 0
6 luni-12 luni	4, 6 ± 0, 7	11, 8 ± 2, 3	35, 0 ± 5, 0
1 an-3 ani	4, 5	12, 5	36
4 ani-10 ani	4, 7	12, 9	38
11 ani-15 ani	4, 8	13, 4	39

Formula leucocitară şi numărul de leucocite în funcţie de vârstă după J. Bernard

Nr. Leucocite × 10^3/µl	Nou-născut	9 luni	3 ani	10 ani	Adult
	10-20	4-12	4-10	5-10	5-10
NEUT %	60-70	25-40	30-35	45-60	50-70
EO %	1-2	1-4	1-4	1-4	1-4
BASO %	0, 4	0, 2	0, 1	0, 1	0, 1
LYMPH %	20-25	50-70	45-60	40-50	30-45
MONO	12	8	6	6	6
MIELOCITE	0, 5	0	0	0	0

4.2.3. REACTIVI ŞI MATERIALE DE REFERINŢĂ

Achiziţionarea şi recepţia reactivilor şi materialelor de referinţă se fac conform procedurii generale PGL-4.6 ,’’Aprovizionare’’. Responsabilul de analiză verifică îndeplinirea specificaţiilor tehnice şi termenele de valabilitate, apoi asistentul de laborator desemnat cu evidenta gestiunii laboratorului completeaza fisele de magazie respective.

Reactivii utilizati pentru analizorul Sysmex XS-1000i .
a) Cellpack : diluent pentru analizoare hematologice. Se utilizează până la data expirării înscrisă pe cutie sau după deschidere 60 de zile la temperatura +5- 30°C .
Ingrediente active: Clorură de sodiu 0, 64 %
Acid boric 0, 10 %
Tetraborat de sodiu 0, 02 %
EDTA 2 K 0, 002
Condiţionat în bidoane de 20l.

b) Stromatolyser -4DL : diluent pentru analizoarele de hematologie Sysmex
Ingrediente active: Surfactant nonionic 0, 018
Sare organică cuaternară de amoniu 0, 08 %
Condiţionat în flacoane de 2 l.
c) Stromatolyser -4DS– se utilizează pentru colorarea leucocitelor din probele diluate şi lizate în prealabil. Serveşte la determinarea numărătorii 5 Diff (Lymph, MONO, NEUT, EO, BASO)
Ingrediente active: Polimethine dye 0, 002
Metanol 3, 00%
Etilenglicol 96.90 %
Condiţionat în plicuri de 42 ml .
d) Sulfolyser: reactiv fără cianuri utilizat pentru măsurarea HGB.
Realizează lizarea eritrocitelor şi acţionează asupra globinei pentru a forma un hemocrom stabil.

Ingrediente : Sodiu lauril sulfat 0, 17 %
Condiţionat în flacoane brune de 500 ml .

4.2.4. RESURSE UMANE

-medic primar laborator clinic şi microbiologie
-asistent principal laborator clinic

Măsuri de protecţie a personalului
Toate produsele biologice sunt tratate ca şi cum ar fi potenţial infectate şi manipulate cu respectarea următoarelor reguli de bioprotecţie:
-intrarea controlată: majoritatea bacteriilor manipulate în acest laborator sunt patogene pentru om.
-purtarea echipamentului de protecţie în spaţiul de lucru (halat, manuşi pe durata lucrului) La ieşire echipamentul se abandonează în spaţiul de risc.
-nu se pune nimic în gură; este interzis a bea, mânca, fuma.
-nu se pun obiecte personale pe masa de lucru.
-decontaminarea suprafeţelor de lucru cu soluţii dezinfectante avizate este obligatorie la încheierea lucrului.
-se vor citi cu multă atenţie informaţiile referitoare la reactivii toxici sau cu risc biologic specificate în prospectul de lucru al reactivului.
-a se spăla cu apă şi săpun ori de căte ori este nevoie şi la sfărşitul programului de lucru.
Nu se lucrează cu leziuni cutanate neprotejate : se folosesc comprese şi bandaje sterile impermeabile.

4.2.5. CONDIŢII DE LUCRU

Analizoarele Sysmex au fost proiectate pentru a produce radiaţii electromagnetice sub limita admisibilă.
Interferenţele electromagnetice cu analizoarele sunt limitate la nivelul funcţionării corecte a altor instrumente, în conformitate cu destinaţia lor .
Temperatură şi umiditate: analizoarele Sysmex pot funcţiona între 18-32 °C cu o umiditate relativa de maxim 85 % fără condens.

4.3.1. Produsul biologic analizat

Probele de sânge sunt recoltate conform Manualului de recoltare MRP 01, prin puncţie venoasă sau capilară, pe vacutainere de 2 ml cu dop mov cu anticoagulant K_3 EDTA, respectiv microtainere K_3 EDTA cu tubi capilari, după completarea formularelor de solicitare analize medicale .
Specimenele pot fi păstrate la temperatura camerii 6-8 ore şi 24 ore la frigider fără să se modifice numărul de eritrocite, leucocite, trombocite cât şi valoarea HGB.

4.3.2. Condiţii de utilizare

Se utilizează numai sânge uman sau artificial de control.
Orice altă utilizare este considerată nonspecifică.

Se permit pentru utilizare numai reactivii şi soluţiile menţionate în manualul de instrucţiuni de folosire emis de firma producătoare Sysmex .

4.4. Descrierea activitaţii
4.4.1. Operaţiuni pregătitoare.
Recepţionarea probelor biologice are loc în intervalul 8-12 şi în timpul contravizitei 16.30-18.30 (pentru analize medicale de urgenţă :8-15, 16-20).Vacutainerele cu dop mov recoltate în punctele de recoltare (pavilioanele Spitalului) sunt transportate la Laborator în poziţie verticală, însoţite de formularul de solicitare analize, cod F-PGL 5.4-1 L .

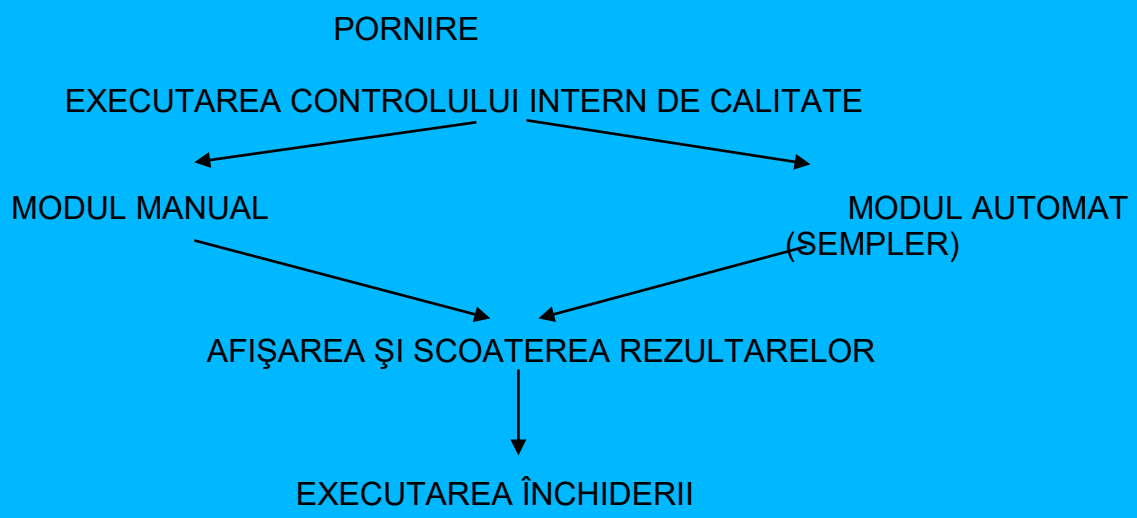
Precauţii standard: toate probele de sânge sunt considerate potenţial infecţioase şi manevrate în consecinţă în conformitate cu legislaţia în vigoare naţională şi internaţională.
Verificarea cantitativă şi calitativă a probelor de sânge şi înregistrarea solicitărilor în registrele de evidenţă a comenzilor(interne, externe, respinse) se fac conform procedurii generale PGL 4.4 , , Analiza contractelor''.

Criterii pentru respingerea unei probe de sânge:
-identificare necorespunzătoare a vacutainerului
-volum de sânge inadecvat
-prezenţa de coaguli în probă sau coagulată complet
-transport sau stocare necorespunzătoare
Atunci când proba nu corespunde cantitativ sau calitativ, persoana responsabilă cu verificarea şi înregistrarea probelor de la camera de receptură anunţă telefonic asistentul medical de necesitatea repetării recoltării.
Probele de sânge care întrunesc criteriile de acceptare, inscripţionate cu ID-ul unic şi formularele de solicitare respective sunt preluate de asistenta de laborator din camera de receptură, transferate în compartimentul de hematologie şi înregistrate în registrul de lucru pentru hemoleucograme, cod RGL 4.4-01-L.
Verificările înaintea pornirii analizorului sunt efectuate de medicul responsabil de analiză şi constau în :
-a) verificarea reactivilor : instrumentul se opreşte automat când un reactiv se
termină în timpul lucrului, se înlocuieşte acest reactiv, se porneşte lucrul.
Date orientative pentru numărul de probe ce pot fi analizate/container de reactiv şi volume/probă consumate.
Cellpack -20 l –aprox. 570 probe; aprox 36 ml/probă
Stromatolyser -4DL -2 l – aprox. 1000 probe; aprox.2 ml/probă
Stromatolyster -4DS -42 ml- aprox.1000 probe; aprox. 0, 03 ml/probă
Sulfoliser -500ml –aprox.1000 probe; aprox. 0, 5ml/probă
-b) verificarea instrumentului: se verifică conexiunile tuburilor şi cablurilor;
Dacă tubulatura nu este îndoită, înnodată, dacă este conectat la reţeaua electrică.
-c) verificarea containerului de deşeuri lichide şi golirea acestuia la nevoie.
-d) verificarea hârtiei din imprimantă şi completarea corespunzatoare

4.4.2. Vedere de ansamblu a operării

Analizorul hematologic Sysmex XS-1000i cuprinde o I.P.U.(unitate de procesare a informaţiei)pentru procesarea datelor, o unitate centrală pentru măsurători şi o imprimantă.

Responsabilul de analiză porneşte în ordine imprimanta, I.P.U., unitatea centrală.După pornire se urmează secvenţa operaţiilor de mai jos pentru efectuarea controlului intern de calitate, analizelor, scoaterea rezultatelor şi apoi oprirea alimentării .



4.4.3. VEDERE DE ANSAMBLU A ECRANELOR

a) Titlul. Afişează nivelul din meniu.
b) Bara de meniu. Pentru fiecare meniu există submeniuri.
La apăsarea butonului stânga a mouse-lui poziţionat pe denumirea unui meniu se afişează desfăşurat lista de submeniuri.
c) Bara de unelte. Butoanele situate imediat sub bara de meniu sunt unelte.
Itemurile comune tuturor ecranelor sunt alocate butoanelor F_1 - F_8 .
d)Tab.Tab-urile pot fi afişate întro fereastră .Pot fi selectate pentru a schimba conţinutul afişat întro fereastră.
e) Zona de ferestre. Arie pentru efectuarea proceselor şi operaţiunilor de bază.
f) Casetele de dialog. Acestea pot fi afişate în cadrul unei ferestre active pentru a-l consulta pe utilizator pentru o decizie sau o confirmare.
g) Bara de afişare a stării sistemului.
Bară afişată în subsolul ariei de ferestre. Afişează starea unităţii centrale, numărul probei, tipul analizei.

4.4.4. Descrierea activităţii de efectuare a HLG automate pe analizorul Sysmex XS-1000i .

Prin deschiderea unităţii centrale se efectuează următoarele operaţiuni: autotest, descărcarea programului de control al unităţii principale, iniţializarea părţilor mecanice şi hidraulice, secvenţa de spălare, stabilizarea temperaturii, verificarea pe gol (background check).
Lucrul începe după ce temperatura internă a aparatului atinge valoarea necesară.Temperaturile camerei de reacţie şi încălzitorului de reactiv sunt afişate în caseta de

dialog, , Temperature monitoring’’când temperatura s-a stabilizat caseta se închide automat.

Programul începe cu efectuarea controlului intern de calitate cu sânge de control pe 3 nivele de valori L_1, L_2, L_3 livrat de firma producătoare.
Se scoate din frigider, se aduce la temperatura camerei, se omogenizează prin mişcări de rotaţie şi răsturnare.
Se selectează în meniul aparatului, , Q C ’’program. Se deschide lista fişierului, , Q C File ’’.
Se selectează cu click stânga nivelul analizat; se selectează, , Modul manual ’’.
Se deschide flaconul, se poziţionează în tubul adaptor. Se dă click, , OK’’ şi se apasă butonul, , START’’.
Rezultatele se vor afişa automat în caseta de dialog. Dacă nu există nici o atenţionare (alarmă) se dă click, , ACCEPT ’’şi rezultatele se vor înregistra în harta, , Q C ’’. Se procedează similar pentru cele 3 nivele.
Controlul calitaţii asigură corectitudinea datelor comunicate.
Permite monitorizarea pe termen lung a stabilităţii valorilor analizate.
Poate să identifice precoce diferite probleme şi să le prevină. Controlul calităţii se execută înainte de analizarea probelor, cel puţin o dată la 8 ore de lucru, după operaţii de întreţinere, după înlocuirea unui reactiv, când precizia datelor analizate este îndoielnică.

Analizarea probelor se poare realiza în modul manual şi automat.

Analiza în modul manual .
Analiza se poate efectua când unitatea centrală este gata (spot verde), capacul este ridicat.
Cu mouse-ul se selectează pictograma, , Manual mode’’ din ecranul, , Controller’’; dublu click pentru a lansa ecranul, , Manual mode ’’.
Ecranul poate fi lansat şi cu butonul, , Manual ’’ din bara de unelte sau tasta F_2 .
Se înregistrează datele de identificare ale pacientului pe câmpurile afişate: numărul probei din registrul de evidenţă primară, nume, prenume pacient, pavilion, numărul foii de observaţie.
Proba se agită, se deschide, se pozitionează în tubul adaptor potrivit.
Se urmăreşte led-ul situat în bara de jos a ecranului să fie gata de aspirare, se dă click, , OK’’ şi se apasă butonul, , START ’’ .
După analizare rezultatele se imprimă, proba se închide şi se păstrează 24 ore la frigider.

Analiza în modul automat(sempler) .
În acest mod de lucru agitarea, aspirarea, analiza probei sunt efectuate automat.
Capacul sempler-lui este închis.
Dacă acesta este deschis se activează întrerupătorul de analiză şi programul se întrerupe printr-o avertizare sonoră şi un mesaj scriptic.
Se verifică cu atenţie starea etichetelor de pe vacutainere să nu fie încreţite, multiple, exfoliate pentru ca vacutainerele să fie uşor ridicate şi aduse înapoi în rack. Se lucrează 20 de probe instalate în rack .

Se selectează din bara de unelte, , Work list ’’ apoi, , Register ’’pentru înregistrarea datelor pacienţilor conform câmpurilor afişate : numărul probei din registrul de evidenţă primară, numărul rack, numărul tubului, tipul de analiză, , , CBS+Diff ’’, numărul foii de observaţie, nume, prenume pacient, vârsta, mediul de provenienţă, sex, pavilion.
După fiecare pacient se dă click, , ADD NEXT ’’şi la ultimul, , OK’’asigurându-se succesiunea înregistrării.
Se instalează vacutainerele în rack, se verifică corectitudinea ordinii de la 1 -10 a rack 1 şi rack 2 .
Se aşează rackii în sempler. Se închide capacul.
Se selectează din bara de unelte, , sempler ’’, apare un nou ecran în care se înscrie numărul de ordine al primei probe, se confirmă şi numărul rack-ului, numărul probei se dă, , OK’’ şi se apasă butonul, , START’’ plasat pe sempler.
Rezultatul analizelor vor fi imprimate succesiv pe parcursul a aproximativ 20 minute.
Un semnal sonor avertizează finalul analizelor; în caseta de dialog afişată se dă click pe, , OK’’.
Vacutainerele se păstrează la frigider 24 ore.

4.4.5. Închiderea analizorului.

Când este efectuată închiderea, linia de diluţie şi detectorul sunt curate.
Se trece instrumentul printrun ciclu de închidere la sfârşitul fiecărei zile de lucru .
Procedura de închidere a analizorului este :
- se apasă butonul, , Controller’’ din ecranul meniu, sau dublu click pe pictograma, , Shut Down ’’, se deschide caseta de dialog, , Shut Down ’’.
- se confirmă, , Execute’’urmând un ciclu de spălări de 2 minute.
- se închide butonul analizorului.
- se inchide I.P.U.
- se apasă butonul, , Start’’ din bara de jos a ecranului, se selectează, , Shut Down’’ din caseta de dialog realizându-se operaţiunea de închidere a programului.
-se închide imprimanta.

4.5. Calibrarea

Acest proces se efectuează pentru a compensa orice inadvertenţă apărută în sistem. Analizorul Sysmex XS-1000i îşi determină automat valoarea de calibrare prin programul de deschidere zilnică. Calibrarea iniţială este realizată de reprezentantul de service autorizat de la firma furnizoare a aparatului.
Orice eroare semnalată de controalele interne sau externe este anunţată inginerului de service autorizat care va acţiona specific.

4.6. Curăţare.Întreţinere.

Acest instrument necesită întreţinere regulată pentru a-şi păstra cea mai bună condiţie. Desfăşurarea acestei activităţi se înregistrează în fişa de înregistrare a mentenanţei .
Întreţinerea zilnică : se realizează prin procesul de deschidere/închidere.
Întreţinerea lunară: se realizează prin spălare cu soluţie Cellclean livrată în flacoane de 10 ml pe baza referatului de necesitate.

-se repartizează 3 ml soluţie întrun vacutainer.
-se lucrează în modul manual urmărind indicaţiile căsuţei de dialog pe parcursul a 15 minute.
Întreţinere la nevoie: se înlocuieşte containerul de deşeuri lichide, se execută clătirea automată, curăţarea camerei de deşeuri, eliminarea bulelor din celula de flux, golirea camerei de reacţie, eliminarea cheagurilor din detectorul RBC, curăţarea aperturii detectorului RBC .
Înlocuirea consumabilelor : se execută de responsabilul de analiză.
Înlocuirea acului de aspirare, a siguranţelor, a pompei de aer sunt operaţii ce aparţin reprezentantului firmei de service.
Înlocuirea reactivilor este executată de operator :
- instrumentul se opreşte automat după ce ultima analiză este completă.
- se deschide caseta de dialog, , Help ’’.
- se înlocuieşte reactivul indicat cu unul nou înserând parametrii în câmpurile casetei de dialog, , Reagents replecement ’’(volum, numărul lotului, data expirării).
- se dă click pe butonul, , Execute ’’.
Această secvenţă de înlocuire este comună tuturor reactivilor specifici instrumentului.

4.7. Controlul intern de calitate.
Calitatea rezultatelor obţinute în laboratorul de analize medicale-compartimentul hematologie- depinde de mai mulţi factori :

a) Metoda analitică potrivită ca specificitate clinică, acurateţe, limită de detecţie, interval analitic. Producătorii analizorului Sysmex XS-1000i asigură, prin recunoaşterea în domeniu a performanţelor tehnologice a acestui echipament, valoarea diagnostică şi precizia celor 24 de parametri hematologici comunicaţi.
b) Reactivii utilizaţi sunt specifici acestui tip de analizor, sunt gata pregătiţi astfel nu mai intervine factorul uman în preparare, au stabilitate specificată în prospectul de folosire. Au certificat de calitate şi sunt stabili în flacoane închise şi deschise.
c) Sângele de control intern posedă certificat de calitate asigurând trasabilitatea măsurătorilor.

Laboratorul face dovada efectuării acestui control pe trei nivele L_1, L_2, L_3 în condiţiile menţionate anterior, prin dosarul de control intern al analizorului Symex împreună cu hărţile de control .

Dosarul cu informaţii al analizorului cuprinde copii xerox după toate fişele de service(operaţiuni de mentenanţă, reparaţii, verificări).

d) Compartimentul de hematologie este înscris cu hemoleucograma automată executată pe Sysmex XS-1000i la un program de supraveghere internaţională a calităţii.
Sunt urmăriţi următorii parametrii: HGB, HT, RBC, WBC, MCV, MCH, MCHC, PLT.

Rezultatele proprii Laboratorului au fost comparabile cu cele ale mediei, încadrându-se în limitele de variaţie admise. Acestea sunt incluse în dosarul de control extern .

e) Analizorul Sysmex XS -1000i furnizează pe lângă valorile numerice ale diferitelor celule, indici şi constante eritrocitare, variaţiile de distribuţie celulară şi HISTOGRAME pentru eritrocite, leucocite, plachete.

Ele conţin informaţii utile operatorului privind controlul calităţii rezultatelor elaborate şi promovarea investigaţiilor ulterioare (citologia frotiului sanguin, reticulocite, citochimie).

4.8. VALOAREA CLINICĂ A HLG AUTOMATE

Întrucât metodele manuale, tradiţionale de numărate a celulelor sanguine sunt într-o oarecare măsură imprecise, necesită timp şi muncă intensivă, dezvoltarea liniilor de cercetare şi producţie a analizorilor hematologici automaţi a devenit o necesitate imperioasă.
Aceste instrumente moderne realizează măsurători pe un număr foarte mare de celule (10.000 fată de 100-200 în metodele clasice) furnizând rezultate statistic semnificative, cu înalt nivel de exactitate.
Analizorul Sysmex XS-1000i este un echipament de ultimă generaţie, performant, beneficiind de progresul tehnologic actual, oferind clinicianului informaţii multiple şi sigure cu condiţia ca probele să fie corect recoltate, validate, procesate, analizorul să fie bine întreţinut, operatorii instruiţi şi martorii de calitate corespunzători.

4.9. ACTIVITĂŢI FINALE

Rezultatele imprimate sunt analizate de responsabilul de analiză, parafate, codificate, triate pentru eventualele investigaţii ulterioare.

4.10. REZULTATE ŞI INTERPRETARE

Parametru	Valori de panică	
	Joase	Înalte
Nr.LEUCOCITE $\times 10^3/\mu l$	<2, 0	>20
Nr.ERITROCITE $\times 10^6/\mu l$	<2, 0	
HEMOGLOBINĂ g/dl	<7, 0	
HEMATOCRIT %	<18, 0	>60
MCV fl	<65	>120
Nr.TROMBOCITE$\times 10^3/\mu l$	<50	>900
GRANULOCITE $\times 10^3/\mu l$	<1, 0 pt. un.nr.L < 4, 0	
LIMFOCITE %		>70
MONOCITE %		>25

BLAŞTI		>5

O importantă componentă a asigurării calităţii informaţiilor furnizate de HLG automată o reprezintă examinarea citologiei frotiului de sânge periferic de către medicul de laborator în conformitate cu procedura specifică PSL-H04-02 ,, Citologia frotiului sanguin’’.
Când instrumentul semnalizează anumite modificări, operatorul verifică datele şi asistentul întinde, colorează frotiurile şi le prezintă medicului.

Criterii de efectuare a frotiului sanguin

De regulă eozinofilia > 0, 7×10³/µl sau 20 %, monocitoza >10 % sau>1000/ µl, leucocitoza >30×10³/ µl, anemia, microcitoza, celulele atipice, limfoplasmocitele, trombocitopenia<40×10³/ µl, trombocitoza impun examenul morfologic complet pentru verificarea veridicităţii numărătorii automate.

4.11.VARIAŢIILE PATOLOGICE ALE PARAMETRILOR HEMATOLOGICI ALE SÂNGELUI PERIFERIC DETERMINATE PRIN HLG AUTOMATĂ.

I. Scăderea numărului de eritrocite; Scăderea HGB şi HCT.ANEMIA.
O.M.S. recomandă încadrarea în acest diagnostic când valorile HGB sunt la:
bărbatul adult < 13g/dl
femeia adultă <12g/dl
copil<6 ani=<11g/dl
copil 6-14 ani<12g/dl
Numărul de eritrocite, constantele şi indicii eritrocitari, hematocritul, RDW aduc informaţii suplimentare pentru precizarea diagnosticului.

A. Anemia hipocromă microcitară :HEM <27pg; VEM <80fl; CHEM<32 %
Se diferenţiază:
1. Anemia feriprivă hiposideremică:hemoragii cronice, malabsorbţie, sarcină, alăptare, perioade de creştere, infecţii, neoplazii, sindrom nefrotic.
2. Anemii sideroblastice prin defect de utilizare a Fe.
3. Talesemia.

B. Anemii macrocitare şi, , hipercrome ’’ : HEM>32pg; VEM>94fl .
1.Anemii megaloblastice prin carenţă de vitamina B12, primară sau secundară: anemia Biermer, botriocefaloză, maladiea Crohn, medicamentoasă, neoplazii.
2. Anemii megaloblastice prin carenţă de acid folic : carenţe nutritive, malabsorbţie, etc.
C. Anemii normocitare normocrome : HEM 28-32 pg; VEM 82-92 fl .
Caracterizează : anemiile hemolitice, hemoragiile acute, anemii refractare .

II . Creşterea numărului de eritrocite
RBC > 6×10^6/µl
HGB > 18 g/dl la barbaţi şi > 17g/dl la femei
HCT > 54 % la barbaţi şi > 51% la femei

1. Poliglobulia relativă : hemoconcentraţie prin sindroame de deshidratare.
2. Poliglobulia secundară : B.P.O.C., cardiopatii cianogene, hemoglobinopatii
3. Poliglobulia primitivă- Boala Vaquez, sindrom mieloproliferativ, idiopatic însoţit de leucocitoză şi trombocitoză.

III. Leucocitoza
1. Leucocitoza fiziologică : La nou născut aproximativ 25.000/µl; la copil 12000 - 14000/µl în sarcină, efort, stări emoţionale, caniculă.
2. Leucocitoză infecţioasă; infecţii bacteriene localizate sau sistemice, infecţii virale la debut sau perioade de incubaţie a bolilor infecţioase .
3.Leucocitoză post hemoragică .
4.Leucocitoză neinfecţioasă: neoplazii, boală de iradiere, metebolice.
Reacţii leucemoide: numarul de leucocite >30× 10^3/µl .
1.Mieloide: infectii grave, hemolize, intoxicaţii .
2.Limfoide: Boala Carl Smith, tuse convulsivă, mononucleoză infecţioasă . IV.Leucopenia. Scăderea numărului de leucocite <4×10^3/µl .
Se datorează frecvent unei neutropenii, PMN <3000/µl .
Poate fi :
-constitutională
-infecţioasă :virală, febra tifoidă, bruceloză, malarie, tuberculoză, fungică
-hemopatii: anemie aplastică, cronică, leucemii, sindrom Chediack-Higashi, hemoglobinuria paroxistică nocturnă .

V. Agranulocitoza .Scăderea PMN sub 500/µl .
-idiopatică
-secundară: medicamentoasă, substanţe chimice, infectii virale, infecţie cu Salmonella typhi, microbacterii, boală de iradiere, endocrine, neoplazii .

VI. Eozinopenie : febra tifoidă, tuberculoză, şoc, hemolize, anemie Biermer .

VII. Eoziofilie : cresterea numărului de eozinofile >4 % sau >400-500/µl .
1.Infecţioasă:scarlatină, dizenteria amebiană, varicelă, febră aftoasă, gonococie, oreion, herpes zoster, tuberculoză, lepră .
2. Post infecţioasă-convalescenţa bolilor infecţioase .
3. Parazitară :helmintiaza, echinococoză, trichineloză, toxocaroză, ankilostomiază, cisticercoză, f ascioloză hepatică, enterobiază etc.
4. Micoze: aspergiloză, coccidiomicoză .
5.Hemopatii maligne: leucemia cu eozinofile, boala Hodkin, limfadenopatie angioimunoblastică .
6. Neuro-vegetativă .
7. Alergică : urticarie, migrene, astm bronşic, rinită, boala serului, stări anafilactice .
8. Dermatologică : pemfigus bulos , dermatite herpetiforme, atopică, eczeme psoriazis .
9. Paraneoplazică : cancere metastatice, pulmonare, ovariene, seroase; melanom
10. De iradiere : radioterapie, raze X .
11. Boli endocrine: maladie Addison, mixedem .
12. Toxică: intoxicaţie cu arsenic, fosfor, benzen, acid sulfuric, barbiturice

13. Medicamentoasă :digitală, acetilcolină, salicilaţi, antipirină, fenotiazină etc.
14. Diferite afecţiuni: cologenoze, rahitism, glomerulonefrite, insuficienţă renală etc.

VIII. Bazofilia : >1% sau > 60/µl bazofile în formula leucocitară.
Valori moderate : diabet, dislipidemii, mixedem .
Valori importante: sindroame mieloproliferative cronice, leucemia cu bazofile, boala de iradiere, neoplazii etc.

IX. Limfocitoza
Fiziologică: la nou -născut, sugar ≥60 % dinF.L.
La copil, adolescent ≈35 %

1. Infecţioasă : mononucleoză infecţioasă, boala Karl Smith, rubeolă, rujeolă, oreion, toxoplasmoză etc.
2. Post infectioasă : convalescenţa bolilor infectioase .
3. Hemopatii: limfoame, sindrom Sézary, gamapatii monoclonale, anemie aplastică .
4. Endocrină : maladia Basedow, Addison, acromegalia, tetania etc.
5. Carenţială: avitaminoze, rahitism .
6. Boli metabolice: diabet, obezitate .
7. Alte afecţiuni : psihopatii, epilepsie, neurastenie .
8. Constituţională .
9. Toxică şi postmedicamentoasă .

X. Limfopenie. Frecvent se întâlneşte o limfopenie relativă corelată cu neutrofilia.
Limfopenie infecţioasă : febra tifoidă, tifos exantemic .

XI. Monocitoza > 10 % în FL; 1000/µl

1. Monocitoza infecţioasă .
2. Infecţia cu CMV; subiecţi imunodeprimaţi, transfuzaţi, transplantaţi, SIDA
3. Toxoplasmoza
4. Infecţii cu monocitoză fără leucocitoză:
   - Acute: rujeolă, varicelă, dizenterie, parotidită, encefalite, bruceloză, lozisteriă, hepatită virală .
   - Cronice: sifilis, tuberculoză, paludism, tripanosomiaza, etc.
5. Infecţii cu monocitoză şi leucocitoză: endocardită, anginâ Plaut- Vincent, difterie, variolă, febre exantematice .
6. Hemopatii : sindrom mielodisplazic, poliglobulie, limfoame, sarcoidoză, metaplazie mieloidă cu mielosclerozâ .
7. Boli de colagen: artrită reumatoidă, lupus eritematos sistemic.
8. Colită ulceroasă, enterite regionale .
9. Intoxicaţii şi reacţii postmedicamentoase .

XII. Monocitopenie < 200/µl
Apare în: infecţii acute, terapie cu corticosteroizi, citostatice, neoplazii.

XIII. Hiperplachetoza :400-800× 10³/µl plachete
Acompaniază:
1. Anemia post hemoragică acută, hemolitică, feriprivă .
2. Infecţii acute : septicemii, bronşite, scarlatine, etc.
3. Convalescenţa bolilor infecţioase.
4. Splenectomia .
5. Boli neoplazice : mezoteliom pleural, peritoneal, tumori maligne cu diverse localizări, limfoame .
6. Maladii prin mecanism imun : spondilită, colită ulceroasă, lupus eritematos sistemic, amiloidoză .

7. Cardiopatii cianogene, valvulopatii.
8. Caşexie, alcoolism cronic, agonie .
Trombocitemia : număr plachete >800×10³/µl
Esenţială:Trombocitemia hemoragică trombotică
Secundară: Sindroame mieloproliferative cronice, cancer de colon.

XIV. Trombocitopenie. Scăderea numărului de plachete sub 150×10³/µl dar mai ales < 50×10³/ µl .
•Trombocitopenie cu durată de viaţă a plachetelor scăzută prin distrucţie periferică dar cu număr normal sau crescut de megacariocite.
-Prin mecanism imun :
a) autoimunizare (autoanticorpi antiplachetari)
Fie idiopatică : maladia Werlhof- purpura trombocitopenică idiopatică.
Fie secundară unui agent identificabil;
-infecţii virale (varicelă, rubeolă, rujeolă, herpes, adenoviroze, gripa B)
-medicamente
-maladii de fond: lupus eritematos sistemic, limfoame
b) izoimunizare : incompatibilitate plachetară feto-maternală
Prin mecanism neimunologic: hipersplenism cu splenomegalie, infectii, ciroză splenomegalică, hipertensiune portală, tumori, fibrinoliză, sindrom de coagulare intravasculară diseminată, dializaţi .
•Trombocitopenic cu durată de viaţă a plachetelor normală şi defect central de formare : anemie Biermer, hemoglobinurie paroxistică nocturnă, metastaze medulare, limfoame, tezaurismoze, granuloame tuberculoase, leucemii acute, insuficienţă medulară din S.I.D.A sau seropozitivitate H.I.V., toxică, postmedicamentoasă, aplazii medulare, radiaţii, meningococcemie .

5. RESPONSABILITĂŢI

5.1. MANAGERUL
- aprobă programul de control extern de calitate
- aprobă planul de etalonare/ verificare metrologică a analizorului

5.2. MANAGERUL TEHNIC
-stabileşte împreuna cu şeful de compartiment programul de control extern interlaboratoare.
-verifică şi aprobă buletinul de analiză.

-asigură consultanţă privind rezultatul investigaţiei de laborator când clinicianul o solicită, când este indisponibil, este înlocuit de locţiitorul stabilit.

5.3. ŞEFUL DE COMPARTIMENT

-este responsabilul de analiză în timpul programului normal de lucru
-stabileşte programul de control intern şi extern.
-verifică şi validează rezultatele controlului intern de calitate.
-execută analizele de laborator de care este responsabil şi validează prin semnătură rezultatele .
-verifică şi validează rezultatele analizelor efectuate de asistentul de laborator din subordine .
-validează prin semnătură buletinul de analiză Cod. FGL-5.8-01.
- întocmeşte referatul de necesitate, cod FGL-4.6-02, Ed.1, Rev.0/

5.4. RESPONSABILI DE ANALIZĂ

-sunt medicii de laborator autorizaţi şi instruiţi pentru utilizarea analizorului hematologic
-execută analizele de laborator de care este responsabil şi validează prin semnătură rezultatele .
-verifică şi validează rezultatele analizelor efectuate de asistentul de laborator din subordine .
-asigură programul de lucru în compartimentul de hematologie în timpul contravizitelor zilnice şi sărbătorilor legale
-efectuează operaţiunile de mentenaţă stabilite în timpul programului de lucru pe analizorul hematologic şi le înregistrează în fişa de mentenanţă

5.5. ASISTENTUL MEDICAL DIN COMPARTIMENTUL DE RECOLTARE / PRELEVARE A PROBELOR BIOLOGICE

- recoltează probele de sânge de la beneficiarii externi, le inscripţionează cu ID-ul probei, completează formularul de solicitare din compartimentul respectiv, Cod F-PGL-5.4-1L.

5.6. ASISTENTUL DE LABORATOR

- execută şi întreţine operaţiunile de curăţare şi dezinfecţie pentru care a fost instruit

- inregsitreaza probele în registrul de lucru

5.7. RESPONSABILUL DE LA CAMERA DE RECEPTURĂ SI ASISTENTUL DE LABORATOR

- preia probele de sânge şi formularele de solicitare, înregistrează probele in softul medical si in registrul de comenzi interne
- identifica probele cu ID generat de soft

5.8. RESPONSABILUL CU ACTIVITATEA METROLOGICĂ

-întocmeşte planul de mentenanţă al analizorului

6. ÎNREGISTRĂRI

F-PGL-5.4.-1 L	Formulare de solicitare analize medicale hematologice
RGL -4.4.-01 I /E	Registru de evidenţă comenzi interne
RGL-4.4-02	Registru de evidenţă comenzi respinse
FGL 4.6-02	Referat de necesitate
FGL - 5.8-01	Buletin de analiză

Spitalul Clinic de Boli Infecţioase
”Sf.Parascheva„ Iaşi
Laboratorul de analize medicale
IASI, Str.Octav Botez Nr 2

PROCEDURA SPECIFICĂ

CITOLOGIA FROTIULUI SANGUIN

COD: PSL-H4-02

Editia 1, Revizia 0

Din data de 01.05.2013

APROBAT
Manager Tehnic
Dr. Rodica Fântânaru

VERIFICAT
Responsabil Calitate
Lorena Zaborila

Elaborat:
Dr. Denisa Covaciuc

DIFUZAT IN REGIM CONTROLAT
EXEMPLAR Nr.

Avertisment: Documentul de fata este proprietatea Spitalului Clinic de Boli Infecţioase ”Sf.Parascheva„ Iaşi - Laboratorul de analize medicale. Reproducerea si difuzarea documentului sunt in exclusivitate dreptul laboratorului.

LISTA DE DIFUZARE / RETRAGERE

Locul difuzării	Primit				Retras			
	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură
R. C	0.		As. Lorena Zaborila					
Manager Tehnic	1		Dr. Rodica Fântânaru					
Sef compartiment Hematologie	2		Dr. Denisa Covaciuc					

INDICATORUL REVIZIILOR

Nr. Crt	Data	Editia/ revizia	Identificari modificare Capitol, subcapitol, pagina modificata, continut modificari	Functia si semnatura		
				Elaborat	Verificat	Aprobat

CUPRINS

1.SCOP ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

2. DOMENIUL DE APLICARE ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

3. DOCUMENTE DE REFERINTA ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

4.1. DEFINITII ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

4.2. ABREVIERI ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

5. DESCRIEREA ACTIVITATII ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

6. RESPONSABILITATI ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

7. INREGISTRARI ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

8. ANEXE ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

1. SCOP ŞI DOMENIU DE APLICARE

Examenul morfologic al frotiului de sânge periferic reprezintă o importantă componeta a activităţii din compartimentul de hematologie deoarece:

-permite controlul valorilor numărătorilor automate efectuate pe analizorul de hematologie
- furnizează detatalii morfologice valoroase despre seriile eritrocitare, leucocitare, trombocitare, celule anormale.
- poate indica direct diagnosticul sau să formuleze sugestii pentru investigaţii suplimentare.

2. DOCUMENTE DE REFERINŢĂ

2.1. SR EN ISO/CEI: 15189: 2007-Laboratoare medicale.Cerinţe particulare pentru calitate şi competentă.
2.2. SR EN ISO/TR: 22869-Laboratoare medicale.Ghid pentru implimentarea în laboratoare a ISO 15189: 2003.
2.3. SR EN 15190: 2005 –Laboratoare medicale.Cerinţe pentru securitate.
2.4. Manualul calităţii Laboratorului Cod MCL-01
2.5. Manualul de recoltare al probelor biologice’
2.6. POL-01 ,,Colectarea, depozitarea şi transportul deşeurilor infectioase ’’.
2.7. Kondi, V- ,,Laborator clinic –Hematologie ’’Ed. Med.1981 Bucureşti.
2.8. Paun, R - ,,Tratat de medicină internă-hematologie ’’ Ed. Med. 1999
2.9. Popa, G - ,,Actualităţi în hematologie’’ Ed. Junimea 1995.
2.10. M.S. –Academia de Ştiinţe Medicale- ,,Metode de laborator de uz curent’’ Ed. Med.1975 Bucureşti.
2.11. Ţiteica, M - ,,Practica laloratorului clinic-Hematologie ’’ Ed. Academiei 1984.

3.DEFINIŢII ŞI ABREVIERI

3.1. Definiţii

3.1.1. Reproductibilitate: se bazează pe măsurători din aceeaşi probă de sânge integral, proaspăt cu rezultate similare.
3.1.2. Acurateţea: apropierea dintre rezultatul unui test, analiză de laborator şi valoarea de referinţă acceptată.
3.1.3. Valoare de referinţă: o metodă descrisă tehnic clar şi exact pentru o procedură care şi-a dovedit suficientă acurateţe şi precizie în investigaţiile de laborator, permiţând a evalua validitatea altor metode de măsurare şi pentru caracterizarea materialelor de referinţă.

3.2. ABREVIERI

HLG – hemoleucograma
HGB – hemoglobină
HCT – hematocrit
E – eritrocite/hematii
L - leucocite
TR – trombocite/plachete

HEM –hemoglobină eritrocitară medie
CHEM – concentraţia în hemoglobină eritrocitară medie
PMN – polimorfo-nucleare neutrofile
FL – formulă leucocitară
DS – deviaţie stângă
A.- anemie
AHAI – anemie hemolitică autoimună
ARN – acid ribonucleic
ADN – acid dezoxiribonucleic
MGG – May-Grünwald Giemsa
LGC – leucemie granulocitară cronică
MMM – metaplazie mieloidă cu mielosclerozăă
LA – leucemie acută
CID – sindrom de coagulare vasculară diseminată
SMD – sindrom mielodisplazic
FAL – fosfatază alcalină leucocitară
CMV – virus citomegalic
HPN – hemoglobinurie paroxistică nocturnă

4. DESCRIEREA PROCEDURII

4.1. SEMNIFICAŢIE CLINICO-BIOLOGICĂ

Studiul morfologiei celularităţii sângelui periferic se realizează pe frotiuri întinse din sângele venos sau mai rar capilar recoltat în vacutainere de 2 ml, K_3 EDTA, (cu dop mov) care asigură în cea mai mare măsură acurateţea caracteristicilor elementelor sanguine.
Frotiurile se colorează panoptic MGG şi se examinează la microscopul optic iniţial cu obiectiv uscat şi apoi cu imersia.
Analiza informaţiilor obţinute din examinarea atentă şi completă a frotiurilor conduce fie la un diagnostic clinic, fie la sugerarea extinderii explorărilor hematologice: numărătoare de reticulocite, mielogramă, biopsie ganglionară, dozarea sideremiei etc.

4.2. RESURSE NECESARE
4.2.1. RESURSE MATERIALE

- lame de siclă cu o porţiune mătuită, bine curăţate şi degresate.
- lame şlefuite cu un vârf rupt (lamă rodată).
- lame şlefuite sterile, unice pentru fiecare pacient în cazul recoltei din pulpa degetului.
- soluţii May Grünwald şi Giemsa
- apă distilată neutră
- Ph indicator de hârtie
- soluţie de carbonat de sodiu 1 %
- ulei de cedru
- microscop optic
- pipete Pasteur, pipete gradate

4.2.2. RESURSE UMANE

- medic primar laborator clinic
- asistent principal laborator clinic

Măsuri de protecţie a personalului.
Toate produsele patologice sunt tratate ca şi cum ar fi potenţial infectate şi manipulate cu respectarea următoarelor reguli de bioprotecţie:
- intrare controlată; majoritatea bacteriilor manipulate în acest laborator sunt patogene pentru om.
- purtarea echipamentului de protecţie în spaţiile de lucru (halat, mănuşi, pe durata lucrului). La ieşire, echipamentul de protecţie se abandonează în spaţiul de risc.
- nu se pune nimic în gură: este interzis a bea, fuma, mânca.
- nu se pun obiecte personale pe masa de lucru.
- decontaminarea suprafeţelor de lucru cu soluţii dezinfectante avizate, obligatorie la închiderea lucrului.
- a se spăla pe mâini cu apă şi săpun şi soluţii dezinfectante de câte ori este nevoie şi la sfârşitul programului de lucru.

4.3. PRODUSUL BIOLOGIC ANALIZAT

Recoltarea probelor biologice pentru obţinerea de sânge venos sau capilar se face prin puncţie venoasa respectiv capilară- conform Manualului de recoltare probe pe vacutainere de 2 ml, K_3 EDTA, (cu dop mov), respectiv microtainere K_3 EDTA cu tubi capilar.
Probele recoltate în punctele de recoltă din spital vor fi recepţionate, verificate cantitativ şi calitativ şi înregistrate în registrul de comenzi interne primind un I.D. comun probei, formularului de solicitare de analiză şi registrului de lucru.
În compartimentul de hematologie, responsabilul de analiză validează din punct de vedere cantitativ şi calitativ proba bilologică, o înregistrează în registrul de lucru şi în computerul compartimentului racordat la analizorul de hematologie.
Precauţii standard:
Toate probele de sânge sunt considerate potenţial infecţioase şi manevrate în conformitate cu legislaţia naţională şi internaţională.
Criterii de respingere a probei biologice:
- identificare necoresunzătoare
- volum necorespunzător
- prezenţa de coaguli
- transport şi stocare defectuase
- plasma hemolizată ce indică o manevră de recoltare laborioasă cu disrtucţii tisulare şi posibil microcoaguli nedetectabili la examenul macroscopic.

Dacă proba nu este validată se anunţă telefonic asistenta de recoltare de necesitatea unei noi recolte.

4.4. DESCRIEREA ACTIVITĂŢII

După efectuarea HLG automate la analizorul hematologic, medicul selectează probele care necesită controlul morfologic şi examinare suplimentară pe frotiul hematologic colorat MGG.

Asistenta de laborator execută frotiul, prepară reactivii, colorează preparatul şi-l prezintă examinatorului.

4.4.1. Tehnica întinderii frotiului.

Din vacutainerul ce conţine proba de sânge selectată, se prelevă o picătură de sânge venos sau capilar; se pune picătura pe capătul din dreapta al unei lame care stă pe masa de lucru.Lama de întins (o lamă diferită şi ciobită la un colţ, ca să fie mai mică decât cea pe care se execută frotiul), se aplică mai la stânga pe lamă, întrun unghi de aproximativ 45°. Se aduce lama de întins spre dreapta, până atinge picătura de sânge.Aceasta se întinde rapid în unghiul format de lama de întins.

Cu un gest uniform se împinge lama de întins într-o mişcare de translaţie în lungul lamei.Preparatul se usucă foarte repede prin agitare în aer.Acest timp reprezintă o primă fixare.Este recomandabil să se execute două frotiuri, unul păstrându-se ca rezervă.Pe lamă se scrie numele bolnavului (cu un vârf de ac, colţul unei lame sau creionul) şi se pune la colorat.

Calităţile unui frotiu.

Un frotiu este reuşit dacă:

a) este mai îngust decât lama

b) nu acoperă toată lama, are margini drepte şi franjuri la extremitatea terminală.

c)are o grosime potrivită astfel încât celulele să fie întrun singur plan, distribuite uniform, să nu fie distruse sau deformate.

Frotiul nereuşit este gros, neuniform, uscat lent sau când lama este nedegresată.

Frotiurile din sânge capilar, executate direct din picătura de puncţie, sunt superioare calitativ celor din sânge venos întrucât morfologia celulelor este complet consevată iar studiul plachetelor permite şi aprecierea gradului de agregabilitate în grupe celulare.

Frotiul se colorează cât mai curând posibil întrucât în lamele nefixate şi necolorate celulele se degradează pierzându-şi afinitatea tinctorială.

4.2.2. Metoda coloraţiei May-Grünwald-Giemsa

A. Principiul metodei

Este o coloraţie panoptică care oferă numeroase detalii morfologice şi de aceea este considerată deosebit de preţioasă în hematologia curentă.

Colorarea unui frotiu poate fi efectuată imediat după întindere sau în primele 24 de ore de la preparare.Datorită amestecului de coloranţi acizi, bazici şi neutri, se vor colora toate componentele celulei sanguine în funcţie afinităţile tinctoriale.

Compoziţia soluţiilor colorante.

Soluţia May-Grünwald:
- eozinat de albastru de metilen 1g
- glicerină neutră p.a. 50ml
- alcool metilic p.a. 100ml
-alcool metilic p.a. 200ml

Soluţa Giemsa:
- eozinat de azur de metilen 3g
- azur de metilen 0, 8g
- glicerină neutră p.a. 200ml

Reactivii sunt achiziţionaţi pe baza referatului de necesitate, sunt gata preparaţi excluzând astfel eventualele erori umane, de cântărire, preparare.

Au certificat de calitate.

Pentru a realiza o coloraţie cu cele mai frumoase nuanţe cromatice trebuie utilizată apă neutră.Controlul neutralităţii apei se realizează cu hârtie pH-indicatoare.

Apa distilată are pH acid 7 – 7, 2.Neutralizarea ei se obţine adăugând câteva picături dintr-o soluţie slab alcalină de carbonat de sodiu 1% la 500ml apă distilată.

Coloraţia MGG dă indicaţie asupra pH-ului componentelor celulare. Astfel, coloranţii acizi sunt fixaţi de porţiunile alcaline ale celulei, care sunt acidofile, iar coloranţii bazici sunt fixaţi de părţile acide, deci sunt bazofile.
Coloranţi acizi: eozina
Coloranţi bazici: albastrul de metilen, eozinat de azur de metilen.
Astfel eozina este fixată de granulaţiile eozinofile care sunt alcaline; albastrul de metilen este fixat de ARN –ul citoplasmatic colorând-o în albastru ; azurul de metilen este fixat de ADN nuclear colorându-l în violet purpuriu.Nucleolul fixează albastrul de metilen deoarece conţine ARN de tip citoplasmatic colorându-se în albastru.
Cu cât o celulă este mai tânără cu atât citoplasma sa este mai bazofilă datorită concentraţiei în ARN.Pe măsura maturării, celulela devine tot mai oxifilă deoarece scade concentraţia de ARN. (exemplu evoluţia eritroblaştilor)

Termenii oxifil, acidofil, eozinofil sunt sinonime care indică afinitatea pentru coloranţii acizi.

B.Tehnica de colorare May-Grünwald Giemsa a frotiului de sânge periferic.
a) Fixarea.Se acoperă frotiul cu un număr cunoscut de picături din soluţia May-Grünwald şi se lasă 2-3 minute.
b) Colorarea se face în doi timpi:
-timpul 1: se adaugă peste soluţia M.G. un număr egal de picături de apă tamponată, se omogenizează şi se lasă 2 minute.
-timpul 2: se varsă soluţia de pe lamă şi fără să se spele se acoperă cu soluţie Giemsa preparată extemporaneu. O picătură soluţie Giemsa concentrată la 1 ml apă tamponată.Se lasă în repaos 20 minute.Se spală cu apă de robinet se şterge dosul lamei, se lasă în stativ pentru uscare.
Dacă apa tamponată a fost alcalină, frotiul este albastru închis, dacă a fost acidă, frotiul este roşu aprins. În ambele situaţii examenul morfologic este dificil şi lipsit de acurateţe.

4.4.3. EXAMENUL FROTIULUI DE SÂNGE

I. Examinarea macroscopică urmăreşte aprecierea calităţilor de întindere şi colorare ale frotiului.
Un frotiu subţire, uniform, cu margini paralele, terminat în franjuri de culoare roz violaceu va asigura un examen microscopic corespunzător.
II. Examinarea microscopică urmăreşte:
a) cu obiectiv uscat (× 40)
-densitatea şi distribuţia celulară, realizând estimări semicantitative şi confruntând rezultatele numărătorii automate.
-tinctorialitatea celulară.
-prezenţa de celule anormale, atipice.
-alegerea zonei adecvate pentru examinarea cu obiectivul cu imersie.
De obicei la unirea 1/3 medie cu 1/3 terminală etalarea celulelor este optimă pentru a efectua analiza morfologică detaliată.
b) Examenul microscopic cu obiectivul cu imersie.

Se examinează pe rând: morfologia eritrocitelor, frecvenţa şi morfologia trombocitelor, frecvenţa şi morfologia leucocitelor cu întocmirea FL.
Se recomandă această ordine de examinare deoarece dacă se începe cu studiul leucocitelor, atractiv şi spectaculos prin variaţiile de formă, structură şi culoare, există riscul omiterii evidenţierii anomaliilor eritrocitelor şi trombocitelor indispensabile conturării unui diagnostic concludent.
Analiza coroborată a informaţiilor examenului microscopic permite ,,Diagnosticul de celulă'', precizându-se:
• Seria celulară din care face parte: elemente proprii ţesutului hematopoietic (granulocitare, eritrocitare, megakariocitare); seria limfocitară, seria monocito- macrofagică.
• Tipul celulei din seria respectivă urmărind talia, structura nucleului, prezenţa nucleolilor, tinctorialitatea citoplasmei, particularităţi morfologice nucleare şi/sau citoplasmatice.

•Vârsta celulei: diferenţierea elementului tânăr ,,blast '', de cel matur ,,cit ''.

Caracteristicile vârstei celulelor

Caractere morfologice	,,BLAST ''	,,CIT ''
Talie	Celulă mare	Celulă mai mică
Raport nucleo - citoplasmatic	În favoarea nucleului	În favoarea citoplasmei
Citoplasmă	Bazofilă	Oxofilă
Reţea cromatiniană	fină	densă
Nucleol	Prezenţi obligatoriu	absenţi

• Prezenţa elementelor anormale respectiv blaşti, celule metastatice, paraziţi.
• Dispoziţia particulară a celulelor.

4.4.3.1. Morfologia elementelor normale din sângele periferic examinate cu imersia

• Eritrocite normale au forma unui disc biconcav cu diametrul de 7, 2 µ de culoare roz portocalie (acidofile datorită conţinutului în HGB) cu centrul mai puţin colorat, clar. Se apreciază talia, forma, culoarea, dispoziţia; sunt normocitare, normocrome.
• Trombocitele sunt elemente mici cu diametrul de 2 -4 µ. Formă sferică, ovoidală, neregulată cu granulaţii azurofile în centru (granulomer) şi periferia albastră (hialomer).
• Leucocitele sunt reprezentate de granulocite nesegmentate şi segmentate diferenţiate prin granulaţii specifice neutrofile, eozinofile, bazofile şi elemente mononucleate, respectiv limfocite şi monocite.

Identificarea diverselor tipuri de leucocite se bazează pe următoarele caracteristici:
- mărimea
- forma, poziţia, structura cromatiniană a nucleului
- culoarea, cantitatea citoplasmei; raportul nucleo-citoplasmatic
- număr, culoare, mărime, distribuţie a granulaţiilor
- prezenţa şi aspectul nucleolilor

Ansamblul acestor caracteristici va asigura identificarea celulară.

Granulocitele au dimensiunea de 12-15µ. Nucleul mare, structura cromatiniană foarte densă, cu benzi grosiere de bazicromatină despărţite de spaţii fine de oxicromatină, segmentat în 3-5 lobi, colorat în violet închis.
Citoplasma oxifilă în care se delimitează granulaţiile neutrofile, eozinofile, bazofile.
Granulaţiile neutrofile: fine, rotunde, numeroase, culoare brună.
Granulaţiile eozinofile: mari, rotunde ca ,,icrele de Manciuria'', portocalii brun roşcat.
Granulaţiile bazofile: mari, neregulate, inegale, brun închis; apar şi pe nucleu.
Limfocitele se diferenţiază în mari, mijlocii şi mici cu diametrul între 6, 2-16µ, nucleul mare, rotund, cromatină densă, violet închis, agregată în grămezi mari compacte, fără nucleol, citoplasmă redusă cantitativ, bazofilă, uneori cu câteva granulaţii azurofile foarte închise la culoare.
Monocitele sunt celule mari cu diametrul 20-25µ, nucleu mare, extrem de variat ca formă, structură cromatiniamă fină, citoplasmă albastru cenuşiu cu fine granulaţii azurofile.
Diferenţierea şi clasificarea procentuală a diverselor tipuri de leucocite prezente pe frotiul sanguin reprezintă ,,formula leucocitară'', respectiv numarătoarea diferenţiată a leucocitelor.
Tehnica de efectuare a FL: pe frotiu se pune o picătură de ulei de cedru şi se fixează poziţia obiectivului folosind macroviza apoi microviza microscopului optic cu diafragmul deschis şi condensatorul sus.
Lama se deplasează în aşa fel încât marginea frotiului să fie examinată în zig zag, într-o singură direcţie pentru a nu citi de două ori aceeaşi porţiune.
Pe masură ce se traversează frotiul leucocitele se notează pe un tabel în dreptul simbolului consemnat. Se numără 200 de elemente sau mai multe şi se face procentajul fiecărei clase.

Formula leucocitară normală

Leucocite	Nou-născut	Sugar	Copil (6 ani)	Adult	Valori absolute
	15.000 - 30.000	9.000 - 15.000	4.000 - 10.000	4.000 - 8.000	

Neutrofil nesegmentat	1 -5 %	1 -5 %	5 %	1 -4 %	50 -200
Neutrofil segmentat	30-70 %	25-30 %	30-60 %	60-70 %	3.000-4.800
Eozinofil	2 -5 %	7 %	4 %	1 -4 %	300-400
Bazofil	0 -1 %	1 %	1 %	0 -1 %	20-80
Limfocit	20-40 %	50-70 %	30-60 %	25-30 %	1.500-2.400
Monocit	2 -8 %	6 -8 %	4 -8 %	4 -8 %	240-600
Plasmocit	0	0	0	0 -0, 5 %	10-40

Efectuarea FL este cerinţa cel mai frecvent solicitată de clinician, contribuind la precizarea unui diagnostic şi instituirea terapiei.
Erori ale rezultatelor comunicate la efectuarea FL.
1. Eroare mecanică dată de imperfecţiunile executării frotiului.
Elementele se distribuie neumiform, cele de talie mare marginalizează, se adună în franjuri perturbând procentele.
2. Erori de interpretare care ţin de gradul de instrucţie şi performanţa profesională a examinatorului.
3. Erori de eşantionaj. Nu pot fi evitate decât încercând examinarea unui număr cât mai mare de celule ce va putea permite concluzii despre întreaga populaţie sanguină.

4.4.3.2. Aspecte anormale ale elementelor celulare ale frotiului de sânge periferic

I. Modificări patologice ale eritrocitelor
• Modificări morfologice de talie:
- ANIZOCITOZA reprezintă inegalitatea de mărime a eritrocitelor semn al existenţei de populaţii de vârste diferite.
Gradul de variaţie a mărimii se exprimă sub formă: uşoară +, medie ++, marcată+++.
- MICROCITOZA: hematii cu diametrul sub 7, 2μ, frecvent hipocrome sau microsferocite (hematii rotunde, uniform colorate, lipsite de zona clară centrală).
-MACROCITOZA: hematii ce depăşesc 9μ diametru, apar bine colorate, oxifile; cele ce depăşesc 12μ sunt megalocite, respectiv hematii gigante, ovalocitare, uniform colorate.

• Modificări morfologice de tinctorialitate:
- ANIZOCROMIE: prezenţa pe frotiu de eritrocite normo, hipo ,,, hiper’’ crome.
- POLICROMATOFILIE: prezenţa de E. cu tentă cenuşie reprezentate de reticulocite (macrocite policromatofile).Indică regenerare hematopoietică.
- HIPOCROMIA – E. palide, sunt slab încărcate în HGB, aceasta fiind concentrată la periferie ; uneori când HEM e mult scăzut, hematia devine inelară (anulocit).

-,HIPERCROMIA’’ – noţiunea nu este reală întrucât CHEM nu depăşeşte 36 ± 2 % dar aspectul sferocitelor, macrocitelor, megalo-ovalocitelor poate sugera această formulare indusă de creşterea grosimii celulei.

•Modificări morfologice de formulă:
Sunt variate şi numeroase constituind repere importante în diagnosticul anemiilor
POIKILOCITOZA: deformare pronunţată a E. care iau formă de rachetă de tenis, pară, ovalară, contur neregulat, dantelat.
SFEROCITE: E.mici, rotunde intens şi uniform colorate cu diametrul de aproximativ 4µ
STOMATOCITE: E. sferice cu zona centrală sub forma unei fisuri.
CELULE ,,ÎN ŢINTĂ’’: E. cu centrul şi periferia bine colorate în roz, despărţite de o zonă inelară clară.
DACROCITE: E. ,,în lacrimă’’, piriforme, uniform colorate.
ACANTOCITE: E. cu membrana citoplasmatică deformată, neregulată.
SCHIZOCITE: fragmente eritrocitare, E. în ,,coif’’ sau ,,coajă de ou’’.
DREPANOCITE: sunt hematii în ,,semilună’’ sau seceră, virgulă.
Apar mai sugestiv dacă sângele este lăsat mai mult între lamă şi lamelă sau se adaugă substanţe reducătoare.
LEPTOCITE: sunt hematii lenticulare, uniform colorate cu membrana citoplasmatică deformate

INCLUZII ERITROCITARE
Sunt întotdeauna anormale şi trebuie menţionate.
INELE CABOT: filamente inelare azurofile provenite din fibrilele fusului de mitoză.
CORPUSCULI JOLLY: resturi de cromatină nucleară, dispuse în citoplasmă, rotunde cu aspect dens, picnotic, colorate violet închis.
PUNCTAŢII BAZOFILE: granule numeroase, neregulate, inegale răspândite uniform în citoplasmă, colorate în albastru verzui.
CORPUSCULII HEINZ: granule mici, rotunde, puţine ca număr, aşezate la periferia celulei, mai frecvent izolate, unice. Nu se colorează panoptic MGG ci numai cu albastru de Nil, violet metil sau albastru de briliant crezil.
•Modificări de dispunere: aşezare a hematiilor ,,în rulouri ’’.

II. Modificări morfologice ale leucocitelor;
Anomalii nucleare şi citoplasmatice
Variaţii de talie:
ANIZOCITOZA: există o anizocitoză fiziologică care devine pronunţată în condiţii patologice.
Granulocitele gigante depăşesc cu 4-5µ dimensiunile unui granulocit normal.
Când sunt şi hipersegmentate se numesc macropolicite.
Pleiocariocitele prezintă 6-8-10 lobi maturându-se amitotic din promielocite.
Karioschize: mici pedicoli ai nucleului, uneori foarte numeroşi.
Granulaţiile toxice: granulaţii multiple, imature burând citoplasma granulocitelor.
Umbre nucleare Gumprecht : vestigii nucleare oxifile care apar datorită acţiunii mecanice de întindere asupra unor celule cu fragilitate crescută.
Limfocite tip Rieder: nucleul prezintă o incizură profundă;citoplasmă hiperbazofilă
Vacuolizări citoplasmatice ale PMN şi monocitelor – formaţiuni rotunde, clare ce înlocuiesc citoplasma, uneori multilpe.

Celule Sézary: limfocite mici cu nuclei convoluţi, voluminoşi, neregulaţi, citoplasmă redusă bazofilă.
Tricholeucocite (hairy cells): monocleare cu citoplasma în franjuri şi fine granulaţii azurofile.
Celule mononucleate reacţionale ,,mononucleozice ’’- celule mari cu nuclei polimorfi şi citoplasme hiperbazofile uneori cu vestigii nucleolare.

III. Anomalii morfologice ale trombocitelor
Anizocitoză plachetară, displazii ale granulomerului şi /sau hialomerului macro/ megalocite, dispunere în ,,plaje’’.

4.5. CONTROLUL DE CALITATE

Este asigurat prin respectarea riguroasă a cerinţelor tehnice de execuţie a frotiului, folosirea de reactivi ce posedă certificat de calitate, examinare temeinică de către medic primar de specialitate, cu experienţă.

4.6. PERFORMANŢELE METODEI

Examenul morfologic al citologiei frotiului de sânge periferic este indispensabil unui diagnostic rapid, complet şi corect cât şi iniţierii unei anumite terapii.
,,Sângele este un ordinator care transmite mesaje, oglindă în care se reflectă bolile viscerale ’’- Jean Bernard.
Frotiul de sânge poate să indice direct diagnosticul fie să asigure sugestii pentru extinderea explorărilor paraclinice.
Exactitatea metodei, acurateţea şi reproductibilitatea ei sunt asigurate de respectarea etapelor de lucru şi a parametrilor de calitate standardizaţi.

4.7. ACTIVITĂŢI FINALE

Frotiurile hematologice cu modificări importante sunt păstrate 1-2 săptămâni pentru eventuale reexaminări. Celelalte frotiuri sunt introduse în borcan cu sulfocrom pentru decontaminare şi după 24 de ore supuse metodologiei de pregătire a lamelor de microscop.

4.8. REZULTATE ŞI INTERPRETARE

Rezultatele analizei morfologice pe serii hematopoietice, limfocitare, monocito-macrofagice, formula leucocitară, uneori diagnosticul clinic sau sugestiile pentru investigaţii suplimentare sunt introduse manual în calculator pentru a configura buletinul de analiză Cod FGL 5.8.-01
Deşi medicina modernă beneficiază de progresele cercetării tehnico-ştiinţifice, biologiei moleculare, aportul adus de examinarea microscopică a preparatului de sânge periferic rămâne preţios şi de neeludat.

Modificări morfologice ale frotiului de sânge periferic sugestive de boală şi investigaţiile indicate

Modificări pe frotiu	Boala sugerată	Investigaţii indicate
Hipocromie +microcitoză	A. feriprivă A. cronică în infecţii	Hemosiderină medulară, sideremie
Hipocromie +macrocite policromatofile	HPN	Testul HAM
Hipocromie +punctaţii bazofile	A. saturnină	Plumbemie/urie
Hipocromie, poikilocitoză, hematii în ,,ţintă'', schizocite	Talasemie	Electroforeza HGB
Hipocromie, microcitoză, anulocite	A. cronică în infecţii	Hemosiderină medulară
Sferocite +policromatofilie	A. hemolitică (sferocitoză ereditară)	Autohemoliză ± glucoză
Sferocite +policromatofilie + aglutinare + DS	AHAI (criză)	Testul Coombs
Schizocite, policromatofilie, rare TR.	CID A.microangiopatică	coagulogramă
Dacriocite+bazofile+granulaţii imature +eritroblaşti + TR.displazice	MMM	Biopsie medulară
Eritrocite ,,în ţintă'', drepanocite	Siclemie	Electroforeză HGB

Modificări pe frotiu	Boala sugerată	Investigaţii indicate
E. în rulouri +tablou leucoeritroblastic ±limfocite reacţionale	Mielom multiplu	Mielograma

Macromegalocitoză, gigantism celular, DS, hipersegment-tarea PMN	A. megaloblastică	Mielogramă Dozare vit. B12
Microsferocite, plicromatofilie	Sferocitoză eritrocitară	Det HGB alcalino rezistente
Stomatocite+macrocite	Stomatocitoză eredi-tară, alcoolism, ciroze	Teste hepatice
Punctaţii bazofile în E.	Saturnism A.megaloblastice, talase-mie	Dozarea Pb mielogramă Electroforeza HGB
Inele Cabot, corpusculi Jolly	A. megaloblastice SMD	mielogramă
Corpusculi Heinz	Intoxicaţii methemoglobinizante	Dozări toxicologice
Leuzocitoză, DS, granulaţii toxice, vacuorizări MONO.şi PMN	Reacţie leucemoidă mieloidă, infecţii grave	Fosfatază alcalină leucocitară
Leucocitoză, DS, bazofilie, eozinofilie	LGC	FAL, cariotip
Tablou leucoeritroblastic +DS, Leucopenie, celule atipice, TR. crescute	Neoplazii	Mielogramă Explorări imagistice

Modificări pe frotiu	Boala sugerată	Investigaţii indicate
Leucocitoză, limfocitoză, umbre Gumprecht	Leucemie limfatică cronică	Imunofenotipare Ex. clinic
Celule ,,hairy’’+monocito-penie ± neutropenie	,,Hairy cells leukemia’’	Biopsia măduvii osoase

Limfocite cu nucleu con-volut	Sindrom Sézary	Imunofenotipare
Leucocitoză+limfomono-citoză+celule ,,monucleozice'' bazofile	M. I.	Reacţia Paul Bunnell Ig M Epsein Baar
Anemie+trombocitopenie+ blaşti atipici+hiatus leuce-mic	Leucemie acută	Mielogramă citochimie imunofenotipare
Macro-megalotrombocite + Hiperplachetoză+bazofilie ± corpi Jolly	MMM	Biopsie M.O.
Eozinofilia ± leucocitoză	Scarlatină Boli parazitare	Examen faringian pt.SBH Ex. coproparazitologic
Leucocitoză majoră +limfo-citoză monomorfă	Tuse convulsivă	Ex. clinic
Plasmocitoză ±leucopenie ± trombocitopenie	Rubeolă Alte boli infecţioase	Reacţii serologice în con-cordanţă cu ex. clinic
Monocitoză ± limfocite reacţionale	Infecţie CMV Alte boli infecţioase Boli diareice	Serologie HIV Ex. Clinic coprocultură

5. RESPONSABILITATI

5.1. RESPONSABILI DE ANALIZĂ

- evalueaza frotiurile sanguine.
- verifică şi validează rezultatele.
- inregsitreaza rezultatele în registrul de lucru

5.2. ASISTENTUL DE LABORATOR

- pregateste frotiurile in vederea evaluarii

- inregsitreaza probele în registrul de lucru

6. INREGISTRARI

- RGL 4.4-0.3 –L Registru de analiza

Spitalul Clinic de Boli Infecţioase
”Sf.Parascheva„ Iaşi
Laboratorul de analize medicale
IASI, Str.Octav Botez Nr 2

PROCEDURA SPECIFICA

NUMARATOARE DE RETICULOCITE

COD: PSL – H04-03

Editia 1, Revizia 0

Din data de
01.05.2013

APROBAT
Manager Tehnic
Dr Rodica Fantanaru

VERIFICAT
Responsabil Calitate
As.Lorena Zaborila

Elaborat:
Sef compartiment hematologie
Dr Denisa Covaciuc

DIFUZAT IN REGIM CONTROLAT
EXEMPLAR Nr.

Avertisment : Documentul de fata este proprietatea Spitalului Clinic de Boli Infecţioase ”Sf.Parascheva„ Iaşi - Laboratorul de analize medicale. Reproducerea si difuzarea documentului sunt in exclusivitate dreptul laboratorului.

LISTA DE DIFUZARE / RETRAGERE

Locul difuzării	Primit				Retras			
	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură
R. C	0.		As. Lorena Zaborila					
Manager Tehnic	1		Dr. Rodica Fântânaru					
Sef compartiment Hematologie	2.		Dr. Denisa Covaciuc					

INDICATORUL REVIZIILOR

Nr. Crt	Data	Editia/ revizia	Identificari modificare Capitol, subcapitol, pagina modificata, continut modificari	Functia si semnatura		
				Elaborat	Verificat	Aprobat

CUPRINS

1. SCOP SI DOMENIU DE APLICARE 5

2. DOCUMENTE DE REFERINTA 5

3.DEFINITII SI ABREVIERI 5

3.1.Definitii 5

3.2. Prescurtari 5

4.DESCRIEREA PROCEDURII 6

4.1. Semnificatie clinica 6

4.2. Principiul metodei 6

4.3. Resursele necesare 6

4.4. Produsul biologic de analizat 6

4.5.Descrierea activitatii 6

4.6.Activitati finale 7

4.7.Valori de referinta 7

5.RESPONSABILITATI 8

6.INREGISTARI SI ANEXE 9

1. SCOP SI DOMENIU DE APLICARE

Prezenta procedura descrie modul de operare si desfasurare a activitatii pentru determinarea numarului de reticulocite din sangele periferic.
Procedura se foloseste in compartimentul de hematologie al laboratorului de probe de sange venos sau capilar recoltat pe K3EDTA.

2. DOCUMENTE DE REFERINTA

2.1. SR EN ISO 15189:2007 – Laboratoare medicale. Cerinţe particulare pentru calitate şi competenţă;
2.2. SR EN ISO:22869 Laboratoare medicale .Ghid pentru implementarea in laboratoare a ISO 15189:2003
2.3.SR EN ISO 15190:2005-Laboratoare medicale –Cerinte pentru securitate

2.4. MANUALUL CALITATII, Cod: MCL – 01

2.5. R. Paun -"Tratat de medicina interna "-Hematologie,Ed Medicala,Bucuresti,1999

2.6. V. Kondi -"Laboratorul clinic –Hematologie ,Ed Medicala1981

2.7. M.S. Academia de stiinte medicale –"Metode curente pentru analize de laborator clinic"

2.8.Manualul de recoltare al probelor biologice - MRP

3.DEFINITII SI ABREVIERI

3.1.Definitii
Reticulocitul este un eritrocit imatur care mai pastreaza ribonucleoproteine si organite celulare.

3.2. Prescurtari

Rt-reticulocit
Sf-ser fiziologic
Ht-hematocrit
I.R.-indice eritrocitar
M.o-microscop optic

4.DESCRIEREA PROCEDURII

4.1. Semnificatie clinica

Numaratoarea reticulocitelor este un test specific de aprecirere a activitatii eritropoietice medulare util in interpretatrea mecanismului de producere si a raspunsului terapeutic in anemii.

4.2. Principiul metodei

Ribonucleoproteinele eritrocitare sunt precipitate si colorate cu solutie de albastru briliant cresyl 1% in s.f..

4.3.RESURSELE NECESARE

4.3.1.Resursele materiale :

- eprubete din sticla sterilizate la etuva ;
- lame din sticla bine colorate si degresate ;
- lama slefuita cu un colt rupt ;
- solutie albastru briliant cresyl 1% in s.f. ;
- pipeta ;
- ulei de cedru ;
- microscop optic.

4.3.2.Resursele umane :

- medic ;
- asistent.

4.4.PRODUSUL BIOLOGIC DE ANALIZAT

Sange venos sau capilar recoltat pe K3EDTA conform PGL 5.4.1. Manualul de recoltare.
Responsabilul de analiza receptioneaza proba ,verifica identitatea acesteia ,daca corespunde cantiativ si calitativ.
Precautii standard :orice produs se considera potential infectios si se manevreaza in conformitate cu legislatia nationala si internationala

4.5 Descrierea activitatii

4.5.1.Tehnica numaratorii de Rt

Asistenta de laborator amesteca intr-o eprubeta 6 picaturi din solutia de albastru briliant cresyl 1% in s.f. cu 12 picaturi de sange prelevate din vacutainerul indicat de medic.
Se lasa in repaos in stativ 1,5-2 ore pentru sedimentare spontana a hematiilor. Se arunca supernatantul.Din sediment se intind frotiuri subtiri.Se usuca in stativ.Se examineaza la m.o. cu obiectivul cu imersie.
Pe frotiurile colrate supravital eritrocitele apar colorate palid albastru verzui iar reticulocitele contin precipitate albastru inchis sub forma de retea granulofilamentoasa densa sau granule mici,izolate,uneori punctiforme.
Se numara o mie de eritrocite notandu-se separat Rt.
Rezultatele se comunica exprimate la % sau la %o ;mai corect in numar absolut.

4.5.2 Controlul de calitate

Calitatea executiei acestei tehnici este asigurata de respectarea metodologiei de lucru :pregatirea lamelor,calitatea reactivului,intinderea frotiurilor,acuratetea examinarii micoscopice.

4.5.3 Performantele metodei

Colorantul albasstru briliant cresyl in s.f.1% ofera avantajul obtinerii de frotiuri subtiri cu elemente bine colorate,distincte,sugestive,asigurand metodei o buna sensibilitate si reproductibilitate.

4.6. Activitati finale

Lamele colorate sunt mentinute in solutie decontaminanta sulfo-cromica timp de 24 h apoi urmeaza circuitul pregatirii lamelor in laborator conform **IL**

4.7.Rezultate si interpretare

Valorile normale apar tiparite in Buletinul de analiza **Cod FGL 5.8-01**

4.7.1.Valori de referinta
Valori procentuale :0,5%-1,5%
Valori in numar absolut 25.000-70.000/µl.
Pentru a estima cu cea mai mare precizie numarul de Rt decat procentual se foloseste uneori »indicele reticulocitar « :

IR=Rt(%) X Ht pacient/Ht normal(45)x1/2

Valoarea normala a I.R.=1.Creste in hiperplazii eritrocitare.

4.7.2.Interpretarea rezultatelor

Numaratoarea Rt in sangele periferic evalueaza activitatea eritropoietica medulara marcand caracterul regenerativ ,hipo sau a-regenerativ al unei anemii.
Este un indicator pretios in stabilirea gravitatii si prognosticului oricarui sindrom anemic.
Reticiocitopenia impune efectuarea mielogramei.

Anomalii cantitative ale numarului de Rt

Numar crescut de Rt	Numar scazut de Rt
Fiziologic la nn(1-4,5%)	
Anemie posthemoragica	Anemie aplastica
Anemie hemolitica	Anemie hipocroma(feripriva,din infectii)
Raspuns reticulocitar dupa terapie cu Fe,vitamina B12,B6,ac.folic « criza reticulocitara « confirma eficienta terapiei	Anemie megaloblastica
Post splenectomie	Anemie diseritropoietica refractara
	Anemie paraneoplazica
	Radioterapie

5.RESPONSABILITATI

5.1. Managerul tehnic

- verifica si aproba buletinul de analiza cod FGL 5.8-01.

5.2 Seful de compartiment

- efectueaza analiza microscopica a frotiului ;
- intocmeste si tipareste buletinul de analiza cod FGL 5.8-01
- semneaza si parafeaza buletinul de analiza cod FGL 5.8-01

5.3. Responsabilul de analiza

- efectueaza analiza microscopica ;
- trece rezultatul in registru de analiza cod RGL-4.4-0.3-L si in computer ;
- intocmeste si tipareste buletinul de analiza cod FGL-5.8.-01.

5.4.Asistenta de laborator :

- recolteaza sangele venos sau capilar ;
- executa frotiul.

5.5.Infirmiera

- executa si intretine curatenia in laborator ;
- colecteaza si depoziteaza reziduurile de probe si deseurile auxiliare,conform instructiunilor de lucru.

6. INREGISTRARI SI ANEXE

- FGL 5.8-01-Buletin de analiza
- RGL 4.4-0.3 –L Registru de analiza

Spitalul Clinic de Boli Infecţioase
”Sf.Parascheva„ Iaşi
Laboratorul de analize medicale
IASI, Str.Octav Botez Nr 2

PROCEDURA SPECIFICA

DETERMINAREA VSH

COD: PSL-H4-04

Editia 1, Revizia 0

Din data de 01.05.2013

APROBAT
Manager Tehnic
Dr. Rodica Fântânaru

VERIFICAT
Responsabil Calitate
As. Lorena Zaborila

Elaborat:
Sef Compartiment hematologie
Dr Denisa Covaciuc

DIFUZAT IN REGIM CONTROLAT
EXEMPLAR Nr.

Avertisment : Documentul de fata este proprietatea Spitalului Clinic de Boli Infecţioase ”Sf.Parascheva„ Iaşi - Laboratorul de analize medicale. Reproducerea si difuzarea documentului sunt in exclusivitate dreptul laboratorului.

LISTA DE DIFUZARE / RETRAGERE

Locul difuzării	Primit				Retras			
	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură
R. C	0.		As. Lorena Zaborila					
Manager Tehnic	1		Dr. Rodica Fântânaru					
Sef compartiment Hematologie	2.		Dr. Denisa Covaciuc					

INDICATORUL REVIZIILOR

Nr. Crt	Data	Editia/ revizia	Identificari modificare Capitol, subcapitol, pagina modificata, continut modificari	Functia si semnatura		
				Elaborat	Verificat	Aprobat

CUPRINS

1. SCOP..... 5

2. DOMENIUL DE APLICARE 5

3. DOCUMENTE DE REFERINTA..... 5

4.DEFINITII SI ABREVIERI 5

5.DESCRIERE PROCEDURA…….....6

6.RESPONSABILITATI..... 8

7.INREGISTRARI 9

1. SCOP

Scopul acestei proceduri este de a prezenta modul de organizare si desfasurare a activitatii de executare a determinarii VSH, in conformitate cu metodele uzuale de laborator si normele de calitate in vigoare.

2. DOMENIUL DE APLICARE

Acesta procedura se aplica in compartimentul Hematologie al Laboratorului de analize medicale din Spitalul de Boli Infectioase Iasi.

3. DOCUMENTE DE REFERINTA

3.1. SR EN ISO 15189:2007 – Laboratoare medicale. Cerinţe particulare pentru calitate şi competenţă;

3.2. SR EN ISO 9000 :2006 - Sisteme de management al calitatii. Principii fundamentale si vocabular.

3.3. MANUALUL CALITATII, Cod: MCL – 01

3.4. Kondi V. Laborator clinic –Hematologie, Ed .Medicala 1981

4.DEFINITII SI ABREVIERI

4.1.Definitii

VSH-viteza de sedimentare a hematiilor-rata de sedimentare a eritrocitelor „in vitro”intr-o proba de sange recoltat pe anticoagulant si lasat in repaos.

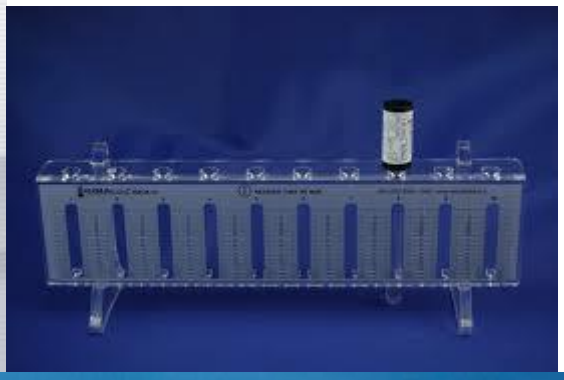
4.2. Prescurtari

MCL - Manualul Calităţii
PSL-procedura specifica de Laborator
PGL - Procedură Generală de Laborator
ID-cod unic de identificare al pacientului.
MRL-Manualul de recoltare

5.DESCRIEREA PROCEDURII

5.1. Echipamente

5.1.1. Stativ de sedimentare –suportul din plastic cu locusuri in care se asaza vertical vacuetele



5.1.2. Vacuetele din plastic cu dop negru cu anticoagulante sodium citrat 3, 8%

5.1.3. Cronometru

5.2.Modul de lucru

5.2.1 Principiul metodei.
VSH reprezinta viteza de sedimentare a hematiilor si masoara indirect gradul de inflamatie tisulara.Este o reactie de disproteinemie intrucat modificarile sunt conditionate de variatiile cantitative ale fibrinogenului si a alfa-globulinelor.
.

5.2.2. Factori de interferenta :
-inclinarea tubului ;
-temperatura ambianta (VSH creste cu temperatura) ;
-timpul scurs de le recoltare –sa nu depaseasca 6 ore ;
-refrigerarea scade valoarea VSH.

5.2.3.Reactivi-solutie izotonica sterila de citrat de trisodic 3, 8%

5.2.4. Prelevarea produsului patologic

Se realizeaza conform **Manualul de recoltare probe, MRP.**

5.2.5 Transportul produsului patologic
Se realizeaza cu respectarea regulilor de protectie a mediului si a personalului medical(tuburi inchise manipulate cu manusi de latex in cutii etanse).

5.2.6.Tehnica de lucru
Vacuetele se rastoarna de 8-10 ori pentru omogenizarea sangelui cu anticoagulantul.Se pun in stativ in ordine, se inregistreaza ora si se citeste conform prospectului producatorului la 1 h sau la 1/2 h.Rezultatul se inregistreaza in Registrul de analize cod RGL-4.4.-0.3-L, apoi in sistemul informatic unde se valideaza si apoi se imprima in Buletinul de analiza, COD FGL 5.8-01.
.

5.2.7.Controlul intern de calitate.
Repetarea citirii unei probe de catre doua persoane diferite, min. o proba /zi, ca si coraborarea cu alte rezultate indicate de alte investigatii de laborator.

5.2.8.Protectia personalului
Toate masurile trebuie sa reflecte practica corecta in laborator :
-ordine si curatenie ;
-purtarea halatelor de protectie si a manusilor de protectie
–spalarea manilor cu apa si sapun si apoi cu solutie de decontaminare dupa manipularea probelor si inainte de a parasi zona de lucru ;
-decontaminarea suprafetelor dupa terminarea activitatii cat si dupa orice contaminare accidentala ;
-efectuarea controlului medical periodic ;
-asigurarea accesului controlat al persoanelor straine.

5.2.9.Exprimarea si interpretarea rezultatelor
Rezultatele determinarii VSH se exprima in mm/1 ora
Valori normale :barbati<50 ani :<15mm/h
>50 ani :<20mm/h
femei<50 ani :<15mm/h
>50 ani :<30mm/h
copii mici si sugari :9-12mm/h
Valorile VSH sunt influentate de factori eritrocitari(anemia creste VSH)si plasmatici (favorizeaza formarea de rulouri de ex fibrinogen, Ig) .
VSH creste in inflamatii, infectii acute si cronice, hemopatii maligne, neoplasme, infarct miocardic.
VSH scade in poliglobulie, insuficienta cardiaca, deshidratare, infectii virale.

6.RESPONSABILITATI

6.1 Seful de laborator
- stabileste programul de control extern inter laboratoare ;
- verifica si aproba buletinul de analiza ;
- asigura consultanta privind rezultatele cand este solicitat ;
- asigura resursele materiale
- supravegheaza si verifica periodic modul de executie si calitatea rezultatelor.

6.2. Responsabilul Calitatii
- stabileste programul de control intern ;
- verifica si valideaza rezultatele controlului intern ;
- executa analizele pentru care este responsabil**.**

6.3.Responsabilul de analiza
- pregateste proba si stativele ;
- executa proba ;

- inregistreaza rezultatele in Registrul de analiza, Sistemul informatic, valideaza rezultatul, imprima Buletinul de analiza COD FGL 5.8-01.

7. INREGISTRARI

Registrul comenzi interne –cod RGL-4.4-01I/E
Registru de analiza cod-RGL-4.4-03-L
Sistem informatic –SUI
Buletin de analiza-COD FGL-5.8.-01

8. ANEXE

-

Spitalul Clinic de Boli Infecţioase
”Sf.Parascheva„ Iaşi
Laboratorul de analize medicale
IASI, Str.Octav Botez Nr 2

PROCEDURA SPECIFICA

DETERMINAREA GRUPELOR SANGUINE IN SISTEMUL ABO SI Rh(D)

COD: PSL – H4-05

Editia 1, Revizia 0

Din data de

APROBAT
Manager Tehnic
Dr. Rodica Fântânaru

VERIFICAT
Responsabil Calitate
As.Lorena Zaborila

Elaborat:
Sef compartiment Hematologie:
Dr Denisa Covaciuc

DIFUZAT IN REGIM CONTROLAT
EXEMPLAR Nr.

Avertisment: Documentul de fata este proprietatea Spitalului Clinic de Boli Infecţioase ”Sf.Parascheva„ Iaşi - Laboratorul de analize medicale. Reproducerea si difuzarea documentului sunt in exclusivitate dreptul laboratorului.

LISTA DE DIFUZARE / RETRAGERE

Locul difuzării	Primit				Retras			
	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură
R. C	0.		As. Lorena Zaborila					
Manager Tehnic	1		Dr. Rodica Fântânaru					
Sef compartiment Hematologie	2		Dr. Denisa Covaciuc					

INDICATORUL REVIZIILOR

Nr. Crt	Data	Editia/ revizia	Identificari modificare Capitol, subcapitol, pagina modificata, continut modificari	Functia si semnatura		
				Elaborat	Verificat	Aprobat

CUPRINS

1. SCOP..... 5

2. DOMENIUL DE APLICARE 5

3. DOCUMENTE DE REFERINTA..... 5

4.DEFINITII SI ABREVIERI 5

4.1.Definitii 5

4.2. Prescurtari..... 6

5.DESCRIEREA PROCEDURII 6

5.1. Metoda Beth-Vincent(eritrocitara) 6

5.2. Metoda Simonin(serica) 7

5.3.Factori de eroare ……9

5.4.Deteriminarea factorului Rh(D)……....9

5.5.Activitati finale……..9

5.6.Controlul intern de calitate…….9

5.7.Protectia personalului si mediului……...9

6.RESPONSABILITATI…….9

7.INREGISTRARI……9

1. SCOP

Scopul acestei proceduri este de a prezenta modul de desfasurare a activitatii de determinare a grupelor sanguine.

2. DOMENIUL DE APLICARE

Procedura se aplica in cadrul compartimentului de hematologie in vederea determinarii grupelor sanguine in sistemul ABO si Rh (D) prin doua metode:eritrocitara (Beth-Vincent) si serica (Simonin) de catre doua persoane cu doua randuri de reactivi.
Proba de sange (venos sau capilar) recoltata in punctele de recoltare stabilite conform MRL -5.4.1 este preluata la receptie , verificata , numerotata, inregistrata in Registrul de comenzi interne cod RGL 4.4 -0.1-I/E si transmisa in compartimentul 04.Aici este inregistrata in Registrul de analiza cod RGL 4.4.-0.3-L, executata, introdusa in SIU, validata si eliberata ca rezultat final in buletinul de analiza.

3. DOCUMENTE DE REFERINTA

3.1. SR EN ISO 15189:2007 – Laboratoare medicale. Cerinţe particulare pentru calitate şi competenţă;

3.2. SR-EN/TR 22869:2003 - Ghid pentru implementarea in laboratoare a ISO15189

3.3. MANUALUL CALITATII , Cod: MCL

3.4.Paun R „Tratat de medicina interna-Hematologie.Ed Medicala Bucuresti 1997

3.5.Kondi V. "Laborator clinic –Hematologie „-Ed Medicala 1981

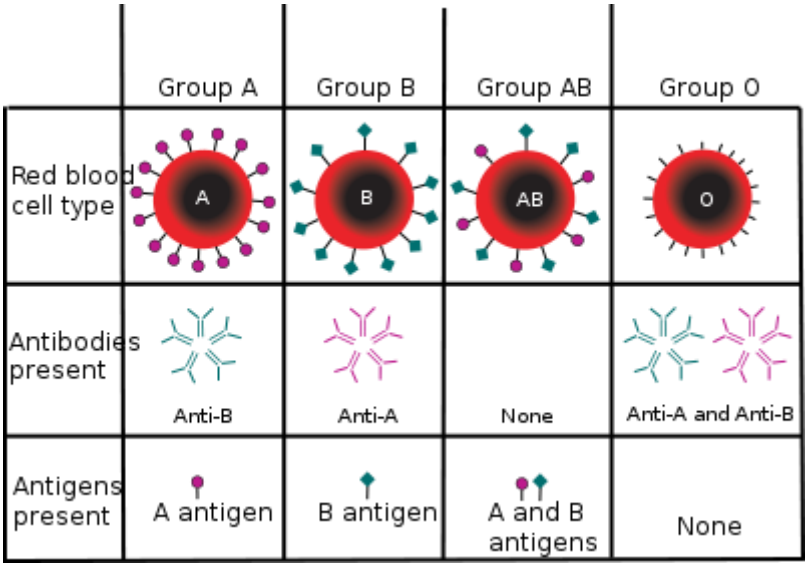
3.6.Prospect trusa reactivi

3.7.Manualul de recoltare PGL 5.4.-1

4.DEFINITII SI ABREVIERI

4.1.Definitii:

Determinarea grupelor sanguine se bazeaza pe fenomenul de aglutinare ce trebuie sa apara intre aglutinogenele(Ag) eritrocitare A, B si aglutininele(Ac) omologi lor, anti-A si anti-B.
O persoana poseda in ser Ac corespunzatori Ag absente pe eritrocite.



4.2. ABREVIERI

Ag-antigen/e
Ac-anticorp/i

5.Descrierea procedurii:

5.1. Metoda Beth –Vincent (eritrocitara):

5.1.1.Principii.
Se pune in contact pe lama ser hemotest care contine Ac cunoscuti cu sange de grup necunoscut .Aparitia hemaglutinarii indica prezenta Ag corespunzator si formarea complexelorAg-Ac.

5.1.2. Materiale necesare:

- seruri hemotest monoclonale(O-anti AB, A-anti-B, B-antiA);
- lame de sticla curate , degresate;
- solutie de decontaminare.

5.1.3. Tehnica de lucru:
Pe lama se pune succesiv de la stanga la dreapta cate o picatura de ser hemotest in ordinea urmatoare:O, A, B.Cu coltul unei lame se adauga in volum 1/10 cate o picatura din sangele de cercetat, schimband coltul acesteia pentru fiecare picatura cu ser hemotest.
Se amesteca pentru o omogenizare completa .
Se imprima lamei o miscare rotativa lenta .
Citirea se face cu ochiul liber in 2'-3' apreciindu-se prezenta sau absenta aglutinarii.

5.1.4.Interpretarea rezultatelor
Daca in toate picaturile nu apare aglutinare amestecurile ramanand roz, uniforme, sangele cercetat e de grupa 0.
Daca apare aglutinare cu serurile O si B si lipsa de aglutinare cu serul A sangele este de grup A.
Daca apare aglutinare cu serurile O si A si lipsa ei cu serul B sangele este de grup B.
Daca aglutinarea este prezenta in toate picaturile sangele este de grup AB.

5.2. Metoda Simonin (serica).
Determina aglutininele in serul de cercetat anti –A si anti-B cu hematii test O, A, B recoltate proaspat, controlate si refrigerate pana la 7 zile.

5.2.1. Materiale necesare:
- hematii test O, A, B.
- lame de sticla;
- solutie de decontaminare

5.2.2. Tehnica
Pe o lama se pun 3 picaturi din serul de cercetat.
Apoi succesiv, de la stanga la dreapta se pun hematiile test O, A, B omogenizandu-se cu coltul lamei diferit de fiecare data.
Raportul eritrocitelor/ser sa fie 1/10.
Citire cu ochiul liber in 2'-3 ' dupa rotirea lenta a lamei support.

5.2.3. Interpretarea rezultatelor
Reactia negativa-absenta aglutinarii.
Sangele cercetat este de grup AB(O).
Reactia pozitiva –prezenta aglutinarii in cele 2 picaturi A, B –sangele este de grup O(αβ.).
Lipsa de aglutinare cu eritrocite A si aglutinare cu eritrocite B=sangele este de grup A(β).
Lipsa aglutinarii cu eritrocite B dar aglutinare cu eritrocite A=sangele este de grup B(α).
Cu eritrocite O pentru toate grupele reactia e negativa.

5.3.Factori de eroare in determinarea grupelor sanguine

5.3.1.Erori datorate sangelui de cercetat

- Autoaglutinarea determinata de prezenta auto-Ac respectiv aglutinine la rece Indiferent de grupe si metode de determinare toate picaturile din reactie vor prezenta aglutinare.Prin incalzire 30 de minute la $37C^0$ fenomenul dispare.
- Hemoliza eritrocitelor datorata prezentei C' seric ce poate inhiba sau reduce aglutinarea .Inactivarea serului 30' la $56C^0$ inlatura fenomenul.
- Aparitia Ac specifici iregulari .Dau erori in metoda Simonin la femei Rh(D) negative izoimunizate prin sarcini repetate cu titruri inalte de Ac anti Rh.Remediul este folosirea eritrocitelor test Rh negativ in reactie.
- Influenta varstei:pana ala 3-5 luni aglutinogenele se exprima slab in reactie
- Transfuziile cu solutii macromoleculare pot induce fenomene de autoaglutinare.Spalarea eritrocitelor inlatura riscul de eroare.

5.3.2.Erori datorate serurilor hemotest:expirate, cu titrul scazut de Ac, infectate

5.3.3.Erori datorate eritrocitelor test:infectate, invechite.

5.3.4.Greseli de tehnica:citire tardiva (pseudoaglutinare), coagularea picaturii de sange, hemoliza , etichetarea gresita a reactivilor.
Daca exista dubii se repeta determinarea cu alt set de reactivi si eritrocite test.

5.4.Determinarea factorului Rh(D)
Materiale necesare:

- ser antiRh(D);
- eritrocite cunoscute Rh+ si Rh- suspensie in ser propriu;
- lame de sticla

Tehnica: pe o lama se depune o picatura de ser hemotest antiRh(D)si o picatura din prelevatul de cercetat;pe o alta lama se repeta aceeasi operatiune cu eritrocite martor, omogenizandu-se cu coltul diferit al unei lame.
Lamele se rotesc lent pentru a urmari aparitia aglutinarii timp de 2-3 minute.
Prezenta aglutinarii in picatura cu sangele de cercetat=Rh(D) pozitiv.
In picaturile de control, eritrocitele Rh(D)+trebuie sa fie aglutinate iar cele Rh(D) negative nu trebuie sa fie aglutinate.
Lipsa aglutinarii in picatura de cercetat-Rh(D) negativ.

5.5.Activitati finale
Lamele se imerseaza in solutie docontaminanta urmand circuitul prestabilit.
Vacutainerele cu sangele de cercetat urmeaza circuitul de colectare, depozitare si transport al deseurilor.

5.6.Controlul intern de calitate
Repetarea citirii rezultatelor de doua persoane diferite, executarea reactiilor cu truse de la doi producatori diferiti si prin cele doua metode (eritrocitara si serica), asigura rezultate de calitate conform standardului in vigoare.

5.7.Protectia personalului si mediului.
Se respecta cu strictete cerintele de biosecuritate pentru protectia personaluluisi a mediului inconjurator.
Toate masurile trebuie sa reflecte practica corecta in laborator:
-ordine si curatenie;
-purtarea halatelor de protectie si a manusilor de protectie
–spalarea manilor cu apa si sapun si apoi cu solutie de decontaminare dupa manipularea probelor si inainte de a parasi zona de lucru;
-decontaminarea suprafetelor dupa terminarea activitatii cat si dupa orice contaminare accidentala;
-efectuarea controlului medical periodic;
-asigurarea accesului controlat al persoanelor straine..

6.RESPONSABILITATI

6.1 Seful de laborator
- stabileste programul de control extern inter laboratoare;
- verifica si aproba buletinul de analiza;
- asigura consultanta privind rezultatele cand este solicitat;
- asigura resursele materiale
- supravegheaza si verifica periodic modul de executie si calitatea rezultatelor.

6.2. Responsabilul Calitatii
- stabileste programul de control intern;
- verifica si valideaza rezultatele controlului intern;
- executa analizele pentru care este responsabil**.**

6.3.Responsabilul de analiza
- pregateste proba si stativele;
- executa proba;
- inregistreaza rezultatele in Registrul de analiza, Sistemul informatic, valideaza rezultatul, imprima Buletinul de analiza.

7. INREGISTRARI

Registrul comenzi interne -codRGL-4.4-01I/E
Registru de analiza cod-RGL-4.4-03-L
Sistem informatic –SUI
Buletin de analiza-FGL 5.8-01

8. ANEXE
-